



# PREVALENCIA DE *Cryptosporidium parvum* EN ESCOLARES DE SONORA, MEXICO

PREVALENCE OF *Cryptosporidium parvum* IN SCHOOL CHILDREN OF SONORA, MEXICO

Lugo Flores CM<sup>1</sup>, López Villalobos JL<sup>1</sup>, Morales-Figueroa GG<sup>2</sup>, Esparza Romero J<sup>2</sup>, Ponce Martínez JA<sup>2</sup>, López Sañudo MG<sup>3</sup> y Quihui-Cota L<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Químico-Biólogo. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México. C.P. 83000.

<sup>2</sup>Departamento de Nutrición Pública y Salud. Coordinación de Nutrición. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Carretera a la Victoria Km 0.6, Hermosillo Sonora, México. C.P. 83304.

<sup>3</sup>Clínica San José. Laboratorio de Análisis Clínicos. Hermosillo Sonora, México.

## RESUMEN

La criptosporidiosis es un problema de salud pública, afectando principalmente a personas inmunocomprometidas, niños y ancianos. Esta infección tiene diferentes factores causales y se le ha asociado con altas tasas de morbilidad en la población afectada. Criptosporidiosis es cosmopolita, pero su prevalencia es más alta en sociedades subdesarrolladas aunque actualmente la misma se desconoce en México. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia actual de *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) en una subpoblación de escolares del municipio de Hermosillo, Sonora, México. Se usó ELISA para detectar antígenos fecales de *C. parvum*. Se invitó a participar a 720 escolares registrados oficialmente en tres primarias públicas. 175 niñas y 145 niños, de edades entre 6 a 13 años participaron voluntariamente durante septiembre a diciembre 2008. De los 320 escolares estudiados, 121 (37,8 %) mostraron infección por *C. parvum*. No se encontró diferencia en la prevalencia de criptosporidiosis entre sexos ( $p = 0,15$ ), ni entre áreas suburbana y rural ( $p = 0,18$ ). Se observó un aumento de la infección con la edad en este estudio. Criptosporidiosis quizá es un serio problema de salud pública en el estado de Sonora y se requieren estudios adicionales que lo confirmen para que las autoridades responsables puedan prevenir y controlar la infección.

**Palabras clave:** *Cryptosporidium parvum*, escolares, Noroeste de México.

## ABSTRACT

Cryptosporidiosis is a public health problem, affecting mainly immunocompromised persons, children and elderly. This infection has different causal factors and it has been associated with high rates of morbidity in the affected population. Cryptosporidiosis is a cosmopolitan infection, but its prevalence is higher in underdeveloped societies although it is unknown in northwestern Mexico. The aim of this study was to determine the current prevalence of *C. parvum* in suburban and rural schoolchildren in the municipality of Hermosillo. ELISA was used to detect fecal antigens of *C. parvum*. 720 officially registered school children in three public

primary schools were invited to participate. 175 and 145 girls and boys, respectively, aged 6-13 years participated voluntarily from september to december 2008. Of the 320 recruited children, 121 (37.8 %) showed infection by *C. parvum*. No difference was found in the prevalence of cryptosporidiosis between genders ( $p = 0.15$ ) or between suburban and rural areas ( $p = 0.18$ ). An increased prevalence of cryptosporidiosis with the age was found. Cryptosporidiosis may be a serious public health problem in the State of Sonora but further larger epidemiological studies are required to confirm this at local level in order to the concerned authorities can prevent and control this infection.

**Keywords:** *C. parvum*, school children, Northwest México.

## INTRODUCCIÓN

Cryptosporidiosis es un problema de salud pública en el mundo, afectando especialmente a personas inmunocomprometidas, niños y ancianos. Se acepta la existencia de 20 especies de *Cryptosporidium* y la enfermedad en el humano se atribuye con mayor frecuencia a 8 de esas especies (*Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium andersoni*, *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium canis*, *Cryptosporidium suis*, *Cryptosporidium muris* y *Cryptosporidium meleagridis*), aunque existen reportes incidentales de infección por otros criptosporidios (Hadfield *et al.*, 2011). Su transmisión se ha asociado con la ingestión de agua no tratada y alimentos contaminados, nivel socioeconómico bajo, condiciones de hacinamiento y convivencia con animales domésticos (Karaniš *et al.*, 2007). Esta infección puede acompañarse de diarrea, dolor abdominal, vómito, anorexia (Chalmers *et al.*, 2010), lo cual explica su asociación con talla y peso bajos en menores de un año de edad en el África occidental y América del Sur (Checkley *et al.*, 1997). Desafortunadamente, *C. parvum* tiene una distribución cosmopolita con prevalencias que pueden variar desde 0,1 % al 27,1 % en países desarrollados, pero de 0,1% a 31,5% en países pobres de acuerdo a Karaniš *et al.* (2007). En México, se ha encontrado una prevalencia de criptosporidiosis hasta de 85,7 % en escolares suburbanos y rurales (Cruz-Díaz, 2005).

Hace más de 16 años un estudio local publicó una prevalencia de 23 % de criptosporidiosis en 100 niños (0 a 5 años) en el noroeste de México (Gómez *et al.*, 1996). Sin embargo, la cifra actual de prevalencia de *C. parvum* es desconocida no sólo en el estado de Sonora sino también en México. La Secretaría de Salud Estatal continúa publicando año tras año, una alta tasa de infección gastrointestinal en la población general (SS, 2008; 2009; 2010) y en la que probablemente *C. parvum* tiene alguna contribución. En base a esto, este estudio investigó la prevalencia de *C. parvum* en escolares de áreas suburbanas y rurales del municipio de Hermosillo, Sonora, México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de Estudio y Población

Este fue un estudio transversal realizado desde septiembre a diciembre de 2008 en el estado de Sonora (noroeste de México), donde el 96 % del territorio es seco y semiseco. La temperatura media de verano es de 38°C (junio-agosto) y de 5°C a 30°C de septiembre a enero. Tres escuelas primarias públicas (una suburbana y dos rurales) (INEGI, 2010) del municipio de Hermosillo fueron seleccionados en base a las altas tasas de infecciones gastrointestinales en la población local (SS, 2008; 2009; 2010), el bajo nivel socioeconómico (Alvarez *et al.*, 2009) definido como un alto porcentaje de padres sin educación secundaria, elevado número de hogares sin drenaje, energía eléctrica, agua potable y baja calidad de los materiales de construcción de hogares (INEGI, 2000) en torno a las áreas de las escuelas seleccionadas. Un total de 720 escolares oficialmente inscritos en las 3 escuelas primarias seleccionadas fueron invitados a participar, mientras que los envases de plástico eran distribuidos para la colección de las muestra de heces (tres por escolar). Trescientos veinte niños (44,4 %) aceptaron participar en este estudio.

### Consideración Ética

Se obtuvo el consentimiento por escrito de los padres o tutores de los escolares que desearon participar. De los 720 escolares, 352 no estaban dispuestos a participar y 48 que no cumplían con los criterios del estudio (discapacitados, suplementados o medicados) fueron excluidos o no reclutados. Tanto los escolares participantes como no participantes estaban viviendo en las mismas áreas y bajo las mismas condiciones alrededor de las primarias seleccionadas. El comité de ética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo otorgó la aprobación correspondiente para llevar a cabo este estudio. Los niños infectados con parásitos intestinales patógenos fueron remitidos a la Secretaría de Salud Pública para el tratamiento apropiado.

### Recolección de Heces y Detección de Antígenos Fecales

Se recolectaron muestras de heces de cada escolar (3 por sujeto durante una semana de visitas a la primaria) y se transportaron al Laboratorio de Parasitología del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo en Hermosillo. Se

pesó un gramo de la muestra ya homogenizada de cada niño y se colocó en viales criogénicos (2 mL), los cuales fueron etiquetados apropiadamente y almacenados a -20 °C hasta su análisis por ELISA (DRG Products, International Inc. USA). Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente (24 °C) y se añadieron 5 mL de solución buffer a cada vial.

Antígenos de *C. parvum* presentes en el sobrenadante de las muestras son capturados por los anticuerpos *C. parvum* unidos a los pocillos. A éstos, se les añadió 200 µL del anticuerpo anti-*C. parvum* con el cual se forma un "sándwich". Esta reacción es visualizada mediante la adición de un segundo anticuerpo *C. parvum* conjugado con peroxidasa y el cromógeno tetrametilbenzidina (TMB). El desarrollo del color azul resultante indica la presencia de antígenos de *C. parvum*. En este punto se añadió 200 µL de solución de ácido fosfórico 1M para interrumpir la reacción, desarrollado así, un color amarillo; el cual fue leído usando un lector de microplacas modelo 680 de laboratorios Bio-Rad en un rango de absorbancia entre 450 nm a 650 nm y el cual indicó la presencia de antígenos de *C. parvum* unidos por los anticuerpos anti-*C. parvum*. Se utilizó un control positivo y uno negativo durante cada corrida para el control de calidad. La muestra se consideró positiva cuando la lectura de la absorbancia era mayor o igual a 0,150 de acuerdo a las instrucciones del fabricante. El kit usado de ELISA tenía una sensibilidad del 93 % y una especificidad del 98 % para el diagnóstico de antígenos fecales de *C. parvum*.

### Análisis estadístico

Se usó estadística descriptiva para expresar la edad de los escolares estudiados como valor medio. La prevalencia de criptosporidiosis se expresó como el porcentaje de escolares con *C. parvum* en cualquiera de las muestras fecales proporcionadas. La prueba de chi-cuadrado se usó para probar diferencias entre proporciones (prevalencia por sexo, por edad y por comunidad). Los datos fueron analizados con el programa estadístico STATA/SE 12.0 (Copyright 1996–2013 StataCorp LP USA) con un nivel de significancia a  $P < 0.05$ .

## RESULTADOS

La edad media de la población participante ( $n = 320$ ) fue de 9,1 años ( $\pm 2,5$ ). Participaron más niñas (55 %,  $n = 175$ ) que niños (45 %,  $n = 145$ ) ( $z = -17,89$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0,0001$ ). Se recolectaron un total de 733 muestras fecales durante el periodo de septiembre a diciembre de 2008. Veintiún por ciento ( $n = 67$ ) y 54 % ( $n = 173$ ) de los niños proporcionaron dos y tres muestras fecales respectivamente.

La prevalencia general de *C. parvum* fue de 37,8 % ( $n = 121$ ). No se observó diferencia en la prevalencia de criptosporidiosis entre sexos ( $\chi^2 = 2,03$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0,15$ ), ni entre escolares suburbanos y rurales ( $\chi^2 = 1,78$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0,18$ ) (Tabla 1). La prevalencia de *C. parvum*, con excepción en rango de edades de 6-7,9 a 8-9,9, mostró una mayor prevalencia a mayor edad del escolar tanto suburbano como rural (Tabla 2).

**Tabla 1.** Comparación de la prevalencia de *C. parvum* entre géneros y entre escolares dependiendo del tipo de comunidad donde se localizaban las primarias en el municipio de Hermosillo, Sonora, México durante 2008.

**Table 1.** Comparison of the prevalence of *C. parvum* between the genders and between the school children based on the type of community where the primaries were located in the municipality of Hermosillo, Sonora, Mexico during 2008.

		Prevalencia % (IC)	P
<b>Género</b>	145 Niños	42 (34-50)	0,15
		vs.	
	175 Niñas	34 (27-41)	
<b>Tipo de área</b>	186 escolares suburbanos	32 (24-40)	0,18
		vs.	
	134 escolares rurales	39 (32-46)	

IC=intervalo de confianza de 95 %.

Significancia a  $p < 0,05$  (P=chi cuadrada).

**Tabla 2.** Comparación de la prevalencia de *C. parvum* entre el grupo de edad 6 – 7,9 contra el resto de los grupos de edad de 320 escolares del municipio de Hermosillo, Sonora, México durante 2008.

**Table 2.** Comparison of the prevalence of *C. parvum* between the 6 – 7.9 age group against the rest of the age groups of 320 school children of the municipality of Hermosillo, Sonora, Mexico during 2008.

Suburbana n= 186		Rural n=134	
Prevalencia (%) (IC)	P	Prevalencia (%) (IC)	P
Edad (años) (examinados)		Edad (años) (examinados)	
17 (8-25)	0,269	26 (15-40)	0,285
8 – 9,9 (72)		8 – 9,9 (48)	
27 (9-46) vs 57 (45-68)	0,015	15 (1-31) vs 45 (31-59)	0,02
6 – 7,9 (22) 10-11,9 (74)		6 – 7,9 (20) 10-11,9 (47)	
82 (66-100)	0,001	57 (36-80)	0,01
12-13,9 (18)		12-13,9 (19)	

IC = Intervalo de confianza de 95 %.

P = Chi cuadrado

Significancia a  $p < 0,05$ .

## DISCUSIÓN

Se evaluó la prevalencia de antígenos de *C. parvum* (septiembre a diciembre 2008) en tres primarias públicas (dos suburbanas y una rural) pertenecientes al municipio de Hermosillo, en el noroeste de México. Este estudio reveló una alta prevalencia de criptosporidiosis en los escolares

estudiados, tanto en las 2 primarias públicas del área suburbana como en aquella rural en el municipio de Hermosillo, Sonora. La prevalencia encontrada para *C. parvum* fue aún mayor que la publicada por Gómez *et al.* (1996) quienes habían determinado una prevalencia de 23,2 % en 100 niños pertenecientes también a la ciudad de Hermosillo, Sonora, detectando anticuerpos monoclonales contra *C. parvum* en heces diarreas. Por otro lado, no se encontraron diferencias en la prevalencia de *C. parvum* entre niños y niñas. Estudios realizados en otros países en el mundo han encontrado resultados controversiales al respecto. Dhakal *et al.* (2004) no encontraron diferencias en la prevalencia de criptosporidiosis entre 276 niños y 184 niñas (edades de 0 a 16 años) en Nepal aunque ellos usaron la tinción de Ziehl Neelsen modificado. Sin embargo, Molloy *et al.* (2011) en un estudio con población nigeriana, publicaron que 357 niñas tenían menor riesgo a presentar criptosporidiosis que 335 niños de la misma edad (1 a 6 años) usando reacción en cadena de polimerasa (PCR). Probablemente, los niños y niñas de nuestro estudio están desarrollando las mismas actividades de riesgo de transmisión de criptosporidiosis relacionados con pobres comportamientos de higiene y bajo nivel educativo de los padres (Molloy *et al.*, 2011).

Por otro lado, se observó que la prevalencia de antígenos fecales de *C. parvum* aumentaba en relación con la edad de los escolares en este estudio. Leach *et al.* (2000) publicaron un hallazgo similar en 279 niños estadounidenses (edad media 7,1 años), donde la prevalencia de anticuerpos séricos IgA e IgG contra *C. parvum* también aumentaba desde el rango de un mes hasta una edad mayor de nueve años. De manera similar, Al-Shamiri *et al.* (2010) encontraron que la prevalencia de criptosporidiosis aumentaba con la edad en 712 niños desde un mes a 12 años de edad en Yemen usando el mismo reactivo de ELISA que en este estudio. En controversia, Dhakal *et al.* (2004) publicaron que la prevalencia de criptosporidiosis mostraba una tendencia a disminuir con la edad en 460 niños de 0 a 16 años, sin identificar factores de riesgo, lo que probablemente esté asociado con la presencia de un sistema inmune más competitivo en relación a la edad del niño en Nepal (CDC, 2004).

Pero en nuestro caso, el aumento asociado con la edad, parece ser el reflejo de la mayor atención que los padres prestan a los niños más pequeños, lo que puede favorecer la posibilidad de que los niños mayores estén expuestos a un mayor riesgo, el cual se puede convertir en un riesgo acumulativo a la infección con la edad avanzada.

## CONCLUSIÓN

Aunque los resultados de este estudio no pueden ser representativos para la población general sonorensis, si ha revelado que *C. parvum* está presente en los escolares de nuestra comunidad, lo cual puede ser un serio problema de salud pública en la misma. Por lo tanto, es recomendable realizar estudios adicionales al respecto que incluyan la identificación de sus factores de riesgo y se diseñen medidas para

prevenir esta infección por parte de las autoridades apropiadas y que al mismo tiempo, se establezcan prioridades para su investigación en instituciones académicas y de salud del estado de Sonora.

## REFERENCIAS

- Al-Shamiri A.H., A.H. Al- Zubairy y R.F. Al-Mamari. 2010. The Prevalence of *Cryptosporidium* spp. in children, Taiz District, Yemen. *Iranian J Parasitol*. 5: 26.
- Alvarez G., F. Lara, S.D. Harlow y C. Denman. 2009. Infant mortality and urban marginalization: a spatial analysis of their relationship in a medium-sized city in northwest Mexico. *Pan Am J Public Health*. 26: 31-38.
- CDC. 2004. Centers for Disease Control and Prevention. *Cryptosporidiosis Surveillance United States, 1999-2002*. Vol. 54, Atlanta, Georgia.
- Cruz-Díaz L. 2005. Prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en niños escolares de un área carente de agua potable entubada, en Ciudad Juárez. In Programa de Biología. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua.
- Chalmers R.M. y A.P. Davies. 2010. Minireview: clinical cryptosporidiosis. *Exp Parasitol*. 124: 138-146.
- Checkley W., R.H. Gilman, L.D. Epstein, M. Suarez, J.F. Diaz, L. Cabrera, R.E. Black y C.R. Sterling. 1997. Asymptomatic and symptomatic cryptosporidiosis: their acute effect on weight gain in Peruvian children. *Am J Epidemiol*. 145: 156-163.
- Dhakal D.N., B.C. Rajendra-Kumarb, J.B. Sherchand y P.N. Mishra. 2004. *Cryptosporidium parvum*: An Observational Study in Kanti Children Hospital, Kathmandu, Nepal. *J Nepal Health Res Counc*. 2.
- Gómez C.E., F.R. Torres y M.E. Díaz. 1996. Utilización de anticuerpos monoclonales en la detección de quistes de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en heces diarreicas de niños de 0 a 5 años en Hermosillo, Sonora. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Hermosillo, Sonora, México.
- Hadfield S.J., G. Robinson, K. Elwin y R.M. Chalmers. 2011. Detection and differentiation of *Cryptosporidium* spp. in human clinical samples by use of real-time PCR. *J Clin Microbiol*. 49: 918-924.
- INEGI. 2000. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Población de México 2000. Mexico. En: <http://cuentame.inegi.org.mx/temperatura>. Accesado: January 10 2011.
- INEGI. 2010. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, Población Rural y Urbana. En: [http://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/rur\\_urb.aspx?tema=P](http://cuentame.inegi.org.mx/poblacion/rur_urb.aspx?tema=P).
- Karanis P., C. Kourenti y H. Smith. 2007. Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lessons learnt. *J Water Health*. 5: 1-38.
- Leach C.T., F.C. Koo, T.L. Kuhls, S.G. Hilsenbeck y H.B. Jenson. 2000. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in children along the Texas-Mexico border and associated risk factors. *Am J Trop Med Hyg*. 62: 656-661.
- Molloy S.F., C.J. Tanner, P. Kirwan, S.O. Asaolu, H.V. Smith, R.A. Nichols, L. Connelly y C.V. Holland. 2011. Sporadic *Cryptosporidium* infection in Nigerian children: risk factors with species identification. *Epidemiol Infect*. 139: 946-954.
- SS. 2008. Secretaria de Salud. Informe anual de casos nuevos de enfermedades en el Estado de Sonora. Departamento de Estadística y Evaluación. Dirección de Planeación y Desarrollo. Hermosillo, Sonora, Mexico.
- SS. 2009. Secretaria de Salud. Informe anual de casos nuevos de enfermedades en el Estado de Sonora. Departamento de Estadística y Evaluación. Dirección de Planeación y Desarrollo. Hermosillo, Sonora, Mexico.
- SS. 2010. Secretaria de Salud. Informe anual de casos nuevos de enfermedades en el Estado de Sonora. Departamento de Estadística y Evaluación. Dirección de Planeación y Desarrollo. Hermosillo, Sonora, Mexico.