

VIABILIDAD DE LOS QUISTES DE *LAMBLIA INTESTINALIS* BAJO DIFERENTES CONDICIONES

Castellón, A., L. Reyes, M. Chinchila, D. Mora.

RESUMEN

Se estudió la resistencia de los quistes de *Lamblia intestinalis* a distintas condiciones. La viabilidad de los quistes fue mayor a temperaturas bajas; a 10° C los quistes permanecieron viables por 40 días. A pH cincuenta por ciento de los quistes permanecieron viables hasta por 22 días. Concentraciones de kilol de 5% al 0,05% fueron 100% efectivas en los quistes de *L. intestinalis*. Se discute la importancia epidemiológica de estos hallazgos. (Rev. Costarricense Ciencias Médicas 1992; 13 (1-2): 9- 15).

INTRODUCCION

Lamblia intestinalis es un protozoario patógeno de distribución cosmopolita (8,10,16). En Costa Rica, Morales y Lizano (13), basándose en datos obtenidos a nivel hospitalario, mostraron un ascenso en la frecuencia de este parásito en el período comprendido entre 1953 a 1973. Así mismo, Salas y colaboradores (16) informan de una prevalencia de 35% en niños de Turrialba en 1978. En un estudio más reciente, realizado en guarderías infantiles del Cantón Central de San José, se informó un 47% de positividad, siendo éste el parásito intestinal más frecuente en la población estudiada (15).

Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica y Centro de Investigación y Diagnóstico en Parasitología (CI DPA), Universidad de Costa Rica.

Lamblia intestinalis es considerada en la actualidad una zoonosis (6,12,14) con reservorios de tipo silvestre como por ejemplo castores (6,14) y domésticos como los gatos y perros (12,18). Esta definición es apoyada por el estudio realizado en Australia en donde se demostró que cepas de este protozoario aisladas de gatos son genéticamente idénticas a las obtenidas de humanos (18), considerándose que los gatos son adecuados reservorios para la infección humana. En Costa Rica, quistes similares al género *Lamblia* fueron encontrados en un 18% de heces de perros provenientes del Valle Central de San José (1).

A pesar de la importancia de esta parasitosis, pocos informes han sido publicados acerca de la viabilidad de los quistes de *Lamblia intestinalis* en distintas condiciones ambientales (3, 4, 5). En el presente trabajo, se analizó la supervivencia de quistes de *Lamblia intestinalis* suspendidos en aguay mantenidos a diferentes pH y temperaturas y tratados con distintas concentraciones del desinfectante kilol DF100, compuesto orgánico natural, derivado del ácido ascórbico, extraído de la semilla de la toronja (17).

MATERIALES Y METODOS

Concentración de quistes y prueba de viabilidad: para la preparación de los quistes se obtuvieron muestras de heces de pacientes positivos por el parásito provenientes de clínicas y

hospitales del área metropolitana. Para la obtención de los quistes se utilizó la técnica de concentración de Faust (7). Para determinar la viabilidad de los quistes se utilizó eosina al 1%, considerándose viables aquellas células no teñidas. No se consideraron viables quistes que aunque no teñidos presentaran el citoplasma contraído.

Efecto de distintas temperaturas: se preparó una suspensión de quistes con una concentración aproximada de 104 por ml en agua destilada. Alícuotas de esta suspensión se mantuvieron a 10, 20, 25 y 30°C y fueron revisadas por viabilidad cada día durante la primera semana y luego dos veces por semana hasta los 70 días.

Efecto de distintos pH: se prepararon suspensiones de quistes del parásito en soluciones amortiguadoras de fosfatos de pH 3, 5, 7, 9 y 11, realizándose ajuste del pH si fuese necesario. Todas las suspensiones se mantuvieron a temperatura ambiente, controlando y ajustando el pH semanalmente con un potenciómetro (Cornig, modelo 120). Las muestras fueron estudiadas por viabilidad cada día durante la primera semana y dos veces por semana hasta los 35 días.

Tratamiento con Kilol: se prepararon suspensiones de kilol al 5%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,1%, 0,05% y 0,01%, a las cuales se les agregó la suspensión de quistes, a temperatura ambiente, determinándose su viabilidad a los 0, 30, 60 y 120 minutos.

RESULTADOS

Efecto de las distintas temperaturas: como se observa en la Fig. 1 la viabilidad de los quistes de *L. intestinalis* fue

mayor a las temperaturas más bajas. A 35°C no se encontraron quistes viables luego de 5 días, por el contrario un 20 % de los quistes permanecieron viables luego de 40 días a 10°C (temperatura de refrigeración). Supervivencias intermedias fueron encontradas a 20 y 25°C y la viabilidad más duradera se observó a 10°C siendo del 10% luego de 63 días en refrigeración.

Efecto de los diferentes pH: a pH 7 cincuenta por ciento de los quistes permanecieron viables hasta por 22 días, mientras que la incubación a pH 11 causó la muerte inmediata de los quistes. En condiciones más ácidas (pH 5) solamente el 20% de los quistes sobrevivieron quince días.

Tratamiento con Kilol: se demostró que concentraciones de kilol del 5% al 0,05% fueron 100% efectivas en la destrucción de quistes de *L. intestinalis*. Con una concentración de 0,01 se presentó una viabilidad de 50% inmediatamente después de agregarse el kilol y de un 32% a las dos horas (Cuadro 1).

DISCUSION

A pesar de que las condiciones ambientales juegan un papel muy importante en la dispersión de *L. intestinalis*, pocos estudios analizan el efecto que causan las variables ambientales de temperatura, tiempo y pH, por sí solas en la supervivencia de los quistes de este protozoo patógeno.

Jarrol y colaboradores (9) informaron que los quistes de *Lamblia intestinalis* sobreviven alrededor de un mes en agua libre de cloro almacenada a 21°C

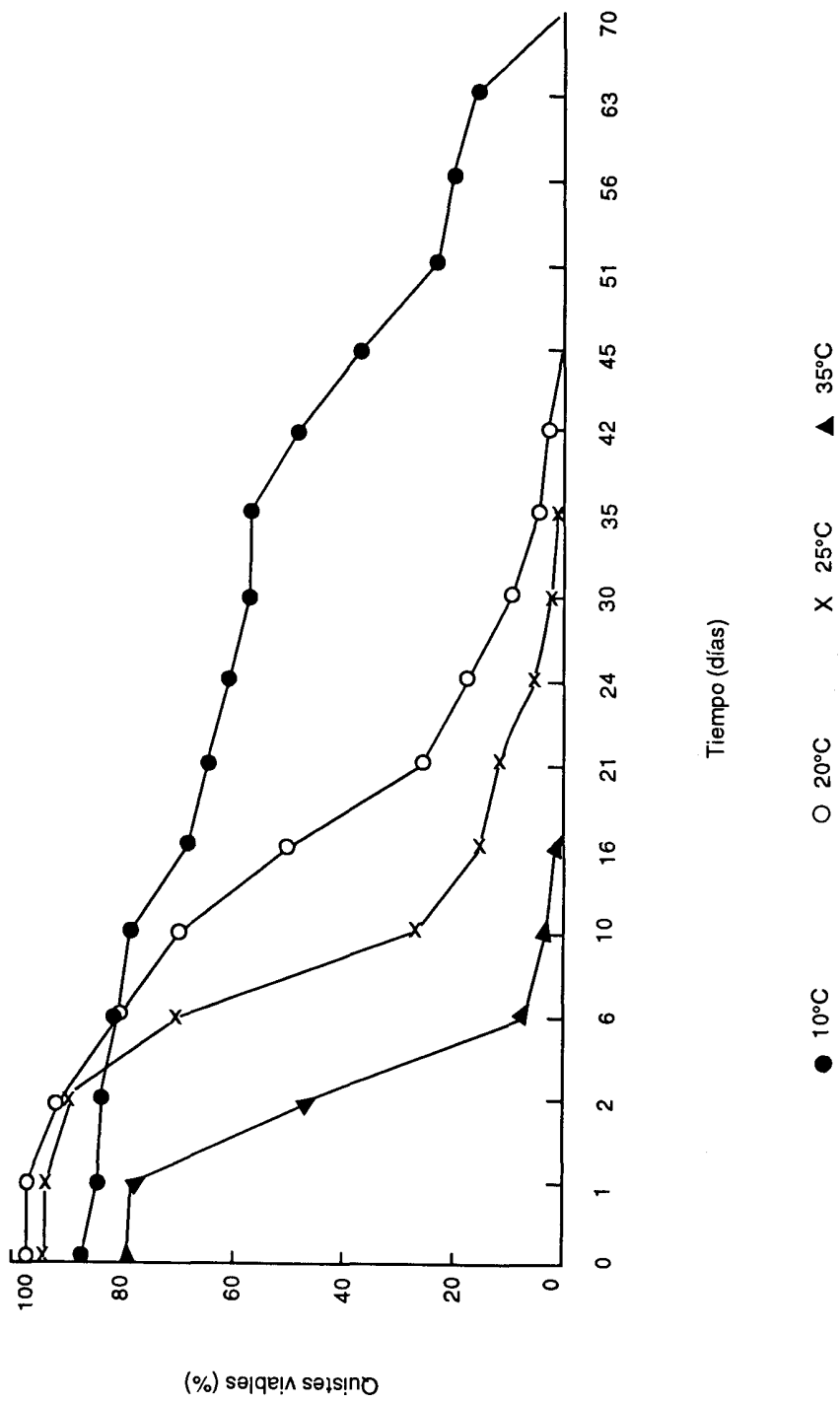


FIGURA 1. Viabilidad de los quistes de *Lambli intestinalis* a diferentes temperaturas.

y por dos meses en agua a 8°C. Boeck (4) notó que a temperaturas de 12°C los quistes permanecen viables por cerca de 66 días, resultados que concuerdan con nuestros hallazgos (Fig. 1), ya que a una temperatura de 20°C los quistes sobrevivieron alrededor de un mes y a 10°C la sobrevivencia fue de dos meses (70 días). Puesto que se ha demostrado la posibilidad de contaminación de alimentos con este protozooario (2), es de gran importancia el hallazgo de que a temperatura de refrigeración los quistes permanecen viables por tan largos periodos de tiempo, lo que aumentaría las posibilidades de transmisión. En referencia a los resultados obtenidos con el pH no hay informes en la literatura al respecto, por cuanto la mayoría de los trabajos realizados estudian en conjunto el efecto del tratamiento con cloro y su efectividad de acuerdo a las condiciones de pH. Sin embargo consideramos importante el realizar el análisis independientemente de esta variable por cuanto en

condiciones naturales de aguas no doradas el pH puede favorecer la supervivencia de los quistes. Dado que en nuestro país los ríos presentan un pH de alrededor de 6, 5-7, 5 (11), en condiciones de no cloración, es de esperar que los quistes pueden sobrevivir cerca de 30 días a temperatura ambiente (Fig. 2).

El detergente kilol, al entrar en contacto con los microorganismos, rompe la pared celular y el citoplasma, dañando así el ciclo vital de la célula e impidiendo su multiplicación (17). El kilol actúa selectivamente contra prácticamente todos los microorganismos patógenos causando la eliminación al instante del contacto, como se pudo comprobar en el presente estudio (Cuadro 1).

Siendo *L. intestinalis* un parásito de gran prevalencia especialmente en la etapa etaria temprana y puesto que el agua y los alimentos son excelentes vehículos de transmisión de este protozooario, cualquier dato de resistencia de sus quistes a factores ambientales es importante. Este trabajo

CUADRO 1

VIABILIDAD DE QUISTES DE *L. INTESTINALIS* A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE KILOL Y TIEMPOS DE EXPOSICION

Conc. de kilol (%)	tiempo (min)			
	0	30	60	120
1	0	0	0	0
0,1	0	0	0	0
0,05	0	0	0	0
0,01	23*	19	15	15

* Número total de quistes viables.

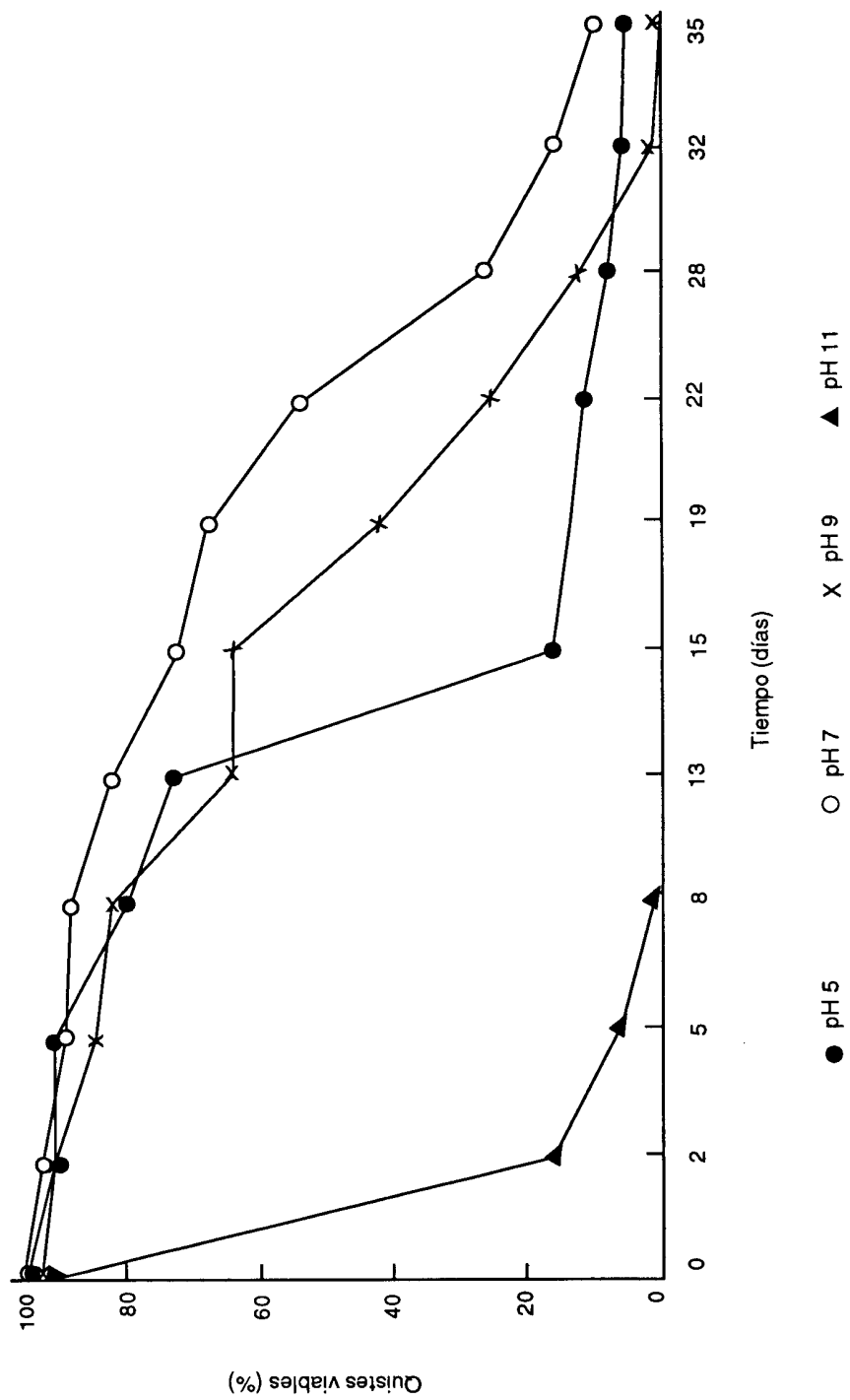


FIGURA 2. Viabilidad de los quistes de *Lamblija intestinalis* a diferente pH.

pretende contribuir al conocimiento de estos aspectos en aras de encontrar los mejores mecanismos de prevención contra esta parasitosis.

ABSTRACT

The resistance of *Lamblia intestinalis* cysts was studied. Survival was longer at lower temperatures (10°C) and neutral pH (pH7), at 40 days and 22 days, respectively. Treatment with kilol (5% -0.05%) was 100% effective for killing cysts. The epidemiological relevance of this findings is discussed.

BIBLIOGRAFIA

1. Aguilar, P., Pacheco, S., Reyes, L. y Chinchilla, M. Prevalencia de Coccidios y Giardia sp. en perros. *Ciencias Vet.* 1988; 10:15-17.
2. Barnard, R. J. y Jackson, G. J. Giardia lamblia. The transfer of human infection by foods En: *Giardia and giardiasis* (S. L. Erlandsen y E. A. Meyer) Plenum Press. New York. 1984; 365-379.
3. Bingham, A. D., Jarroll, E. L., Meyer, E. A. y Radulescu, S. *Giardia* spp.: physical factors of excystation in vitro, and excystation vs eosin exclusion as determinants of viability. *Exp. Parasitol.* 1979; 47: 284-291.
4. Boeck, W. C. The thermal-death point of the human intestinal protozoan cysts. *Am. J. Hyg.* 1953; 1:365-387.
5. DeRegnier, D. P., Cole, L., Schupp, D. G. y Erlandsen S. L. Viability of *Giardia* cysts suspended in Lake, river, and tap water. *App. Environ. Microbiol.* 1989; 55(5):1223-1229.
6. Erlandsen, S. L., Sherlock, L. A., Januschka, M., Schupp, D. G., Schaefer, F. W., Jakubowski, W. y Bemrick, W. J. Cross-species transmission of *Giardia* spp.: inoculation of beavers and muskrats with cysts of human, beaver, mouse and muskrat origin. *App. Environ. Microbiol.* 1988; 54: 2777-2785.
7. Faust, E. C., Antoni, J. S., Odom, V., Miller, M. J., C. Peres, Sawitz, W., Thome, L. F., Tobie, J. y Walker, J. H. A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. *Amer. J. Trop. Med.* 1938; 18:169-183.
8. Hossain, M. M., Ljungstromm, I., Glass, R. I., Lundin, L., Stoll, B. J. y Huld, G. Amoebiasis and giardiasis in Bangladesh: parasitological and serological studies. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1983; 77:552-554.
9. Jarrol, E. L., Hoff, J. C. y Meyer, E. A. Resistance of cysts to disinfection agents. En: *Giardia and giardiasis*. (S. L. Erlandsen y E. A. Meyer) Plenum Press. New York. 1984; 311-328.
10. Kappus, K.K, Juranek D. D. y Roberts J.M. Results of testing for intestinal parasites by state diagnostic laboratories, United States, 1987. *M. M. W. R.* 1991; 40 (SS-4): 25-45.
11. Laboratorio Central. Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados. Informe Anual de Calidad del Agua de Consumo Humano. 1990; 1-100.
12. Meyer, E. A. y Radulescu, S. *Giardia* and giardiasis. *Adv. Parasitol.* 1979; 17:1-45.
13. Morales, M. T. y Lizano, C. Cambios observados en la problemática del parasitismo intestinal en las últimas dos décadas. *Rev. Med. Hosp. Nal. Niños (Costa Rica)* 1978; 3:71-78.
14. Proctor, E. M., Isaac-Renton, J. L., Boyd, J., Wong, Q. y Bowie, W. R. Isoenzyme analysis of human and animal isolates of *Giardia duodenalis* from British Columbia, Canada. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1989;41:411-415.
15. Reyes, L., Marín, R., Catannella, G., Vargas, A., Valenciano, E., Albertazzi, C., Novigrodt, R. y Chinchilla, M. Parasitosis intestinal en niños en guarderías de San José, Costa Rica. *Rev. Cost. Cienc. Med.* 1987; 8 (3): 123-128.

16. Salas, P. J., Lizano, V. X. y Sandí, S. L. Parásitos intestinales más frecuentes en niños del cantón de Turrialba. *Acta Med. Cost.* 1978; 4:375-379.
17. Technical bulletin, Product DF-1000. Chenie International Inc., Concord Drive, Casselberry, Florida, 32707, USA.
18. Thompson, R. C. A., Meloni, B. P. y Lymbery, A. J. Humans and cats have genetically identical forms of *Giardia*: evidence of a zoonotic relationship. *Med. J. Australia* 1988; 143:207-209.
19. White, K. E., Hedberg C. W., Edmonson L. M., Jones D. B. W., Osterholm M. T. y MacDonald, K. L. An outbreak of giardiasis in a nursing home with evidence for multiple modes of transmission. *J. Infect. Dis.* 1989; 160; 298-303.