

**Universidad CEU Cardenal Herrera**

**Departamento de Farmacia**



**ESTUDIO DE LAS PRINCIPALES ZONOSIS  
PARASITARIAS INTESTINALES  
TRANSMITIDAS POR PERROS EN LA  
PROVINCIA DE CASTELLÓN Y SU  
REPERCUSIÓN EN SALUD PÚBLICA**

**TESIS DOCTORAL**

Presentada por:

D. Manuel Adell Aledón

Dirigida por:

Dra. Dña. M<sup>a</sup> Auxiliadora Dea Ayuela

Dra. Dña. Paula Sánchez Thevenet

Dr. D. David A. Carmena Jiménez

VALENCIA

2017





La Dra. M<sup>a</sup> Auxiliadora Dea Ayuela del Departamento de Farmacia, la Dra Paula Sánchez Thevenet del Departamento de Ciencias Biomédicas de la Universidad CEU-Cardenal Herrera y el Dr. David A. Carmena Jiménez del Servicio de Parasitología del Instituto de Salud Carlos III

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado **“Estudio de las principales zoonosis parasitarias intestinales transmitidas por perros en la provincia de Castellón y su repercusión en Salud Pública”**, realizado en el Departamento de Farmacia de la Universidad CEU-Cardenal Herrera, en el marco del programa de doctorado en Ciencias de la Salud por D. Manuel Adell Aledón, Licenciado en Farmacia y dirigido por la Dra. M<sup>a</sup> Auxiliadora Dea Ayuela, la Dra. Paula Sánchez Thevenet y el Dr. David A. Carmena Jiménez, reúne todos los requisitos legales y académicos necesarios para que el interesado pueda optar al título de Doctor por dicha Universidad

Valencia, a 24 de Marzo de 2017

Dra. Dña. M<sup>a</sup> Auxiliadora Dea Ayuela

Dra. Dña. Paula Sánchez Thevenet

Dr. D. David A. Carmena Jiménez



## **AGRADECIMIENTOS**

A todas las personas que participaron e hicieron posible este proyecto, muchas gracias por su apoyo y enseñanza.

A mis directores de tesis, Dras. M<sup>a</sup>. Auxiliadora Dea Ayuela y Paula Sánchez Thevenet, y Dr. David Antonio Carmena Jiménez. Un especial agradecimiento por su dedicación particular al minimizar mis momentos de espanto, alentarme tras los resultados inesperados, reavivar mi espíritu científico tras los hallazgos y proporcionarme cuanto material bibliográfico necesitara en los momentos más oportunos.

A los albergues participantes en el estudio, sin cuyo apoyo desinteresado no habría sido posible realizar el presente estudio.

A los dueños de perros, ganaderos y cazadores que accedieron a participar en el estudio.

A Sandra Diago, que participó en la fase de técnicas analíticas y experimentales, solucionando problemas con humor y profesionalidad.

A Pamela Köster, del Instituto de Salud Carlos III, quién realizó las tareas de clasificación filogenética.

A mis padres, un agradecimiento especial por haberme brindado la oportunidad de iniciarme en esta aventura de la tesis doctoral, mediante su apoyo financiero y su esfuerzo extra al suplirme, ambos, en mi puesto de trabajo durante meses.

A mi mujer, Marta, por su conspicua y egregia paciencia durante los meses de estudio. También por estimularme en los momentos de desaliento y transigir en muchos aspectos por el bien de este trabajo. Gracias cariño, por aceptarme y quererme. Eres una gran mamá. Eres una admirable mujer y compañera.



# ÍNDICE GENERAL

<b>REVISIÓN BIBLIOGRAFICA .....</b>	<b>13</b>
1. CONCEPTO DE ZONOSIS.....	15
2. CONCEPTO DE SALUD ÚNICA .....	19
3. CONCEPTO DE HIGIENE .....	20
4. EL PERRO .....	21
5. PRINCIPALES PARÁSITOS INTESTINALES DEL PERRO .....	23
5.1. CESTODOS.....	23
5.2. NEMATODOS .....	32
5.3. PROTOZOOS.....	41
6. PREVALENCIA DE PARÁSITOS INTESTINALES EN PERROS.....	54
6.1. Estudios realizados en el ámbito internacional .....	54
6.2. Estudios realizados en el ámbito nacional.....	64
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>67</b>
<b>CAPITULO I. Estudio sobre la presencia de parásitos intestinales de importancia zoonótica en perros en la provincia de Castellón .....</b>	<b>71</b>
1. MATERIAL Y MÉTODOS .....	73
1.1. ÁMBITO DEL ESTUDIO.....	73
1.2. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	73
1.3. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL .....	77
1.4. RECOLECCIÓN Y PRETRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	78
1.5. ANÁLISIS COPROPARASITOLÓGICO DE LAS MUESTRAS.....	80
1.5.1. Concentración de las muestras .....	80
1.5.2. Observación mediante microscopio óptico.....	81
1.6. DETERMINACIÓN DE <i>GIARDIA</i> SPP Y <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SPP MEDIANTE INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA (IFD) .....	82
1.7. DETERMINACIÓN DE VARIANTES GÉNICAS DE <i>GIARDIA INTESTINALIS</i> Y <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SPP.....	83
1.7.1. Extracción y purificación de ADN genómico en muestras de heces.....	83
1.7.2. Detección molecular de <i>Giardia intestinalis</i> .....	84
1.7.3. Caracterización molecular de las genovariedades (assemblages) de los aislados de <i>Giardia intestinalis</i> .....	85
1.7.4. Detección y caracterización molecular de los aislados de <i>Cryptosporidium</i> spp. ....	87
1.8. DETERMINACIÓN MOLECULAR DE <i>STRONGYLOIDES</i> SP. ....	89
1.8.1. Extracción y purificación de ADN de <i>Strongyloides</i> sp. ....	89
1.8.2. Detección molecular de <i>Strongyloides</i> sp. ....	89
1.9. INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS .....	90
1.9.1. Cálculo de la prevalencia de los parásitos visualizados por microscopía óptica y/o IFD .....	90
1.9.2. Estudio de secuencias de los productos de amplificación de PCR .....	91
1.9.3. Análisis filogenéticos .....	91

1.9.4. Bioseguridad, control de sesgos y aspectos éticos .....	91
2. RESULTADOS .....	93
2.1. SELECCIÓN Y RECOGIDA DE LAS MUESTRAS .....	93
2.2. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS MACROSCÓPICOS Y MICROSCÓPICOS DE LAS HECES .....	94
2.3. ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE APARICIÓN DE PARÁSITOS INTESTINALES EN PERROS DE LA PROVINCIA DE CASTELLÓN .....	106
2.3.1. Frecuencia global de los parásitos intestinales en perros .....	106
2.3.2. Frecuencia de aparición según la aptitud de los perros .....	108
2.3.3. Frecuencia de aparición según la procedencia geográfica de los perros .....	112
2.3.4. Análisis estadístico de las frecuencias de parasitación .....	116
2.3.5. Análisis de los parásitos con potencial zoonótico .....	118
2.4. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE <i>GIARDIA INTESTINALIS</i> .....	120
2.4.1. Identificación de ensamblajes y subensamblajes .....	120
2.4.2. Estudios filogenéticos .....	126
2.5. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE <i>CRYPTOSPORIDIUM SP</i> .....	129
<b>CAPITULO II. Estudio sobre el impacto socioeconómico de los casos humanos que producen los parásitos intestinales caninos en la provincia de Castellón .....</b>	<b>131</b>
1. MATERIAL Y MÉTODOS .....	133
1.1. CÁLCULO DE LA INCIDENCIA ANUAL .....	133
1.2. EVALUACIÓN ECONÓMICA Y LA DETERMINACIÓN DE CARGA DE ENFERMEDAD .....	133
1.3. ESTUDIO GLOBAL DE CARGA DE LA ENFERMEDAD (AVADs) .....	138
1.4. DETERMINACIÓN DEL GASTO FARMACOLÓGICO EN HIDATIDOSIS .....	141
2. RESULTADOS .....	142
2.1. CASOS ANUALES EN SERES HUMANOS EN ESPAÑA Y EN LA COMUNIDAD VALENCIANA DE GIARDIOSIS, CRIPTOSPORIDIOSIS E HIDATIDOSIS .....	142
2.2. INCIDENCIA ANUAL DE GIARDIOSIS, CRIPTOSPORIDIOSIS Y EQUINOCOCOSIS QUÍSTICA O HIDATIDOSIS .....	148
2.3. COSTES DIRECTOS E INDIRECTOS Y ESTIMACIÓN DE LOS AVADs .....	151
2.3.1. Hidatidosis .....	151
2.3.2. Giardiosis y cryptosporidiosis .....	153
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>157</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>175</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>179</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales enfermedades zoonóticas transmisibles al hombre desde los animales domésticos. ....	16
Tabla 2. Especies de <i>Echinococcus</i> en Europa, con sus hospedadores intermediarios y definitivos .....	26
Tabla 3. Especies de <i>Strongyloides</i> presentes en los animales domésticos.....	38
Tabla 4. Especies de <i>Giardia</i> establecidas. ....	42
Tabla 5. Variedades genotípicas o assemblages de <i>G. intestinalis</i> establecidas.....	43
Tabla 6. Especies de <i>Sarcocystis</i> más frecuentes transmitidas por perros y gatos. ....	49
Tabla 7. Subtipos de <i>Blastocystis</i> encontrados en diferentes especies animales. ....	52
Tabla 8. Estudios realizados en países europeos sobre parásitos intestinales caninos. ....	55
Tabla 9. Oligonucleótidos usados para la identificación molecular y caracterización de <i>G. intestinalis</i> y <i>Cryptosporidium</i> spp., en este estudio. ....	88
Tabla 10. Número de muestras recogidas según la procedencia o aptitud del perro.....	94
Tabla 11. Características del diagnóstico utilizadas para el cálculo de la prevalencia real de parásitos intestinales en perros de la provincia de Castellón. ....	94
Tabla 12. Especies parasitarias identificadas y frecuencia de aparición global (n=348) .....	107
Tabla 13. Especies parasitarias identificadas y frecuencia de aparición en perros domésticos. ....	108
Tabla 14. Especies parasitarias descritas y frecuencia de aparición en perros destinados a la cría de razas de interés.....	108
Tabla 15. Especies parasitarias detectadas y frecuencia de aparición en perros pastores de ovejas. ....	109
Tabla 16. Especies parasitarias identificadas y frecuencia de aparición en perros destinados a la caza mayor del jabalí.....	110
Tabla 17. Especies parasitarias descritas y frecuencia de aparición en perros abandonados.....	111
Tabla 18. Especies parasitarias detectadas y frecuencia de aparición en la comarca del Alcaatén. ....	112
Tabla 19. Especies parasitarias identificadas y frecuencia de aparición en la comarca del Alto Palancia. ....	112
Tabla 20. Especies parasitarias identificadas y frecuencia de aparición en la comarca del Alto Maestrazgo.....	113
Tabla 21. Especies parasitarias descritas y frecuencia de aparición en la comarca del Bajo Maestrazgo.....	114
Tabla 22. Especies parasitarias descritas y frecuencia de aparición en la comarca de la Plana Baja. ....	115
Tabla 23. Especies parasitarias identificadas y frecuencia de aparición en la comarca de la Plana Alta. ....	116

Tabla 24. Características de las 348 muestras de heces correspondientes a los perros estudiados en el área geográfica de la provincia de Castellón. ....	117
Tabla 25. Distribución de las especies identificadas según su capacidad infectiva para el ser humano. ....	118
Tabla 26. Relación del nematodo <i>Toxocara canis</i> con el sexo de los perros. ....	118
Tabla 27. <i>Sub-assemblages</i> de <i>Giardia intestinalis</i> identificados.....	122
Tabla 28. Infecciones mixtas de <i>G. intestinalis</i> descritas en la población canina estudiada. ....	122
Tabla 29. Diversidad, frecuencia y características moleculares de los aislados de <i>Giardia intestinalis</i> caracterizados usando como marcador el gen <i>gdh</i> en poblaciones caninas de la provincia de Castellón, España, 2014–2016.....	123
Tabla 30. Diversidad, frecuencia y características moleculares de los aislados de <i>Giardia intestinalis</i> caracterizados usando como marcador el gen <i>bg</i> en poblaciones caninas de la provincia de Castellón, España, 2014–2016. ....	124
Tabla 31. Muestras positivas para <i>G. intestinalis</i> según la técnica de detección utilizada. (n=127) ....	124
Tabla 32. Frecuencia de los <i>assambages/sub-assambages</i> según la aptitud del animal.....	125
Tabla 33. Parámetros considerados en este estudio para la evaluación del impacto económico de la Hidatidosis en la Comunidad Valenciana. ....	134
Tabla 34. Parámetros considerados en este estudio para la evaluación del impacto económico de la Giardiosis en la Comunidad Valenciana. ....	135
Tabla 35. Costes de los procedimientos clínicos asumidos para la evaluación económica del estudio. ....	135
Tabla 36. Hipótesis asumidas y utilizadas en la evaluación económica del presente estudio. ....	137
Tabla 37. Fuente de los datos utilizados para calcular los años de vida ajustados por la discapacidad (AVAD), asociados a giardiosis y criptosporidiosis. ....	140
Tabla 38. Casos anuales en humanos reportados en España, de algunas de las zoonosis parasitarias tratadas en el presente estudio, en los últimos 10 años. ....	143
Tabla 39. Casos humanos de las zoonosis parasitarias de notificación obligatoria tratadas en el presente estudio, reportadas en la Comunidad Valenciana, en los últimos 10 años. ....	143
Tabla 40. Casos de hidatidosis humana reportados en la Comunidad Valenciana, en relación con el total de casos nacionales. ....	144
Tabla 41. Costes directos, indirectos y totales, derivados de los casos de hidatidosis humana producidos en la Comunidad Valenciana durante el año 2014. Datos propios. ....	152
Tabla 42. Aportaciones económicas en la prestación farmacéutica ....	153
Tabla 43. Costes directos, indirectos y totales, derivados de los casos de giardiosis humana producidos en la Comunidad Valenciana durante el año 2014. Datos propios. ....	154
Tabla 44. Estimación de la carga de gastroenteritis aguda por giardiasis y por criptosporidiosis en la Comunidad Valenciana. ....	155

Tabla 45. Carga anual de <i>Giardia</i> y <i>Cryptosporidium</i> .....	156
Tabla 46. Seroprevalencia de toxocariosis en España.....	171

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Concepto “Salud Única” .....	20
Figura 2. Ciclo biológico de <i>Echinococcus granulosus sensu lato</i> . .....	25
Figura 3. Ciclo biológico de <i>Dipylidium caninum</i> .....	29
Figura 4. Ciclo biológico de <i>Toxocara canis</i> .....	34
Figura 5. Ciclo biológico de los ancilostómidos .....	37
Figura 6. Ciclo biológico de <i>Giardia intestinalis</i> . .....	45
Figura 7. Mapa por comarcas de la provincia de Castellón.....	74
Figura 8. Vista general de los caniles de la residencia R1 .....	75
Figura 9. Vista general del recinto de los mestizos grandes de la residencia R2. ....	75
Figura 10. Vista general de los caniles de la residencia R3. ....	76
Figura 11. Vista general de los caniles de la residencia 4 (R4). ....	76
Figura 12. Recolección de muestras de materia fecal canina en el recinto de los cachorros mestizos de la Residencia 2. ....	79
Figura 13. Clasificación y fraccionamiento de muestras .....	79
Figura 14. Esquema de la distribución de capas de diferente polaridad que se obtienen mediante la técnica de Ritchie.....	81
Figura 16. Ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> (flechas amarillas) y quistes de <i>Giardia</i> (flechas rojas) detectados con anticuerpos marcados con fluoresceína (Fuente CDC).....	82
Figura 17. Esquema de extracción de ADN mediante QIAamp® DNA Stool Mini Kit .....	84
Figura 18. Termociclador 2720-Applied Biosystems .....	87
Figura 19. Muestras fraccionadas en tubos, bajo campana de bioseguridad.. .....	92
Figura 20. Relación de muestras positivas y negativas para parásitos intestinales caninos. ....	95
Figura 21. Muestras monoparasitadas y poliparasitadas para parásitos intestinales caninos, en relación con las muestras negativas.....	95
Figura 22. Relación del número de especies parasitarias descritas en las muestras positivas. ....	96
Figura 23. Larvas indeterminadas de nematodo. 100x .....	97
Figura 24. Infestación masiva por <i>Toxocara canis</i> . Huevos en división celular. 100x .....	98
Figura 25. Huevo de <i>T. canis</i> . 400x .....	98
Figura 26. Huevos larvados de <i>T. canis</i> . 400x .....	99
Figura 27. Huevo larvado de <i>Toxascaris leonina</i> . 400x .....	99
Figura 28. Huevo larvado de <i>Physaloptera</i> sp.400x.....	99

Figura 29. Huevo de <i>Trichuris vulpis</i> . 400x .....	100
Figura 30. Huevos de <i>Trichuris vulpis</i> y de un ancylostomido. 400x .....	100
Figura 31. Poliparasitismo triple. ....	101
Figura 32. Poliparasitismo triple. ....	101
Figura 33. Huevo embrionado de Ancylostomatidae. 400x .....	102
Figura 34. Huevo embrionado de <i>Ancylostoma caninum</i> . 400x.....	102
Figura 35. Huevo larvado de ancylostomátido. 100x.....	102
Figura 36. Huevo larvado de ancylostomátido. 400x.....	103
Figura 37. Larva L1 de <i>Strongyloides sp.</i> 100x .....	103
Figura 38. Cápsulas ovíferas repletas de huevos de <i>Dipylidium caninum</i> .400x .....	104
Figura 39. Porción terminal de la proglótide grávida de un adulto de <i>D. caninum</i> repleta de cápsulas ovíferas llenas, a su vez, de huevos. 400x.....	104
Figura 40. Huevos de taenidos. 100x.....	105
Figura 41. Huevo de <i>Hymenolepis nana</i> (400x) .....	105
Figura 42. Quiste de <i>Giardia intestinalis</i> observado mediante IFD (400x) .....	105
Figura 43. Ooquiste de <i>Cystoisospora sp.</i> 400x .....	106
Figura 44. Distribución y frecuencia relativa por comarcas, de las especies de enteroparásitos zoonóticos más prevalentes en la provincia de Castellón. ....	119
Figura 45. <i>Assemblages</i> de <i>Giardia intestinalis</i> identificados (n=35*) .....	120
Figura 46. Gel de agarosa al 2% mostrando cuatro aislados representativos de <i>Giardia intestinalis</i> parcialmente amplificados en el gen <i>gdh</i> .....	121
Figura 47. Gel de agarosa al 2% mostrando tres aislados representativos de <i>Giardia intestinalis</i> parcialmente amplificados en el gen <i>bg</i> .....	121
Figura 48. Estudio filogenético de los aislados de <i>Giardia intestinalis</i> a partir de las secuencias obtenidas usando como marcador el gen <i>bg</i> . ....	126
Figura 49. Estudio filogenético de los aislados de <i>Giardia intestinalis</i> a partir de las secuencias obtenidas usando como marcador el gen <i>gdh</i> . ....	127
Figura 50. Incidencia de la giardiosis humana en España en el.....	149
periodo 2005-2014.....	149
Figura 51. Incidencia de la criptosporidiosis humana en .....	149
España en el periodo 2005-2014. ....	149
Figura 52. Incidencia en humanos de las tres zoonosis parasitarias consideradas, durante el año 2014 en la Comunidad Valenciana (España).....	150
Figura 53. Incidencia de la hidatidosis humana en la Comunidad Valenciana y en .....	151
España en el periodo 2005-2014. En 2008 no hay datos disponibles de casos humanos .....	151
totales en España.....	151
Figura 54. Convivencia de perros en un mismo recinto de la residencia canina. Foto propia .....	166
Figura 55. Perro alimentándose de un cordero lechal fallecido recientemente .....	168

# REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

---



## 1. CONCEPTO DE ZONOSIS

La OMS define a las zoonosis como “aquellas enfermedades que se transmiten de forma natural entre los animales vertebrados y el hombre, y viceversa” (OMS, 1951, 2017). Este termino fue acuñado en el siglo XIX por el médico y estadista alemán Rudolf Virchow, señalando que "entre la medicina animal y la humana no hay líneas divisorias - ni deberían existir" (Kahn *et al.*, 2007)

Los mecanismos de transmisión de las zoonosis son muy variados y, según éstos, se reconocen:

-**Zoonosis de transmisión directa:** a partir del “reservorio animal”, por contacto con el animal vivo, a través de los alimentos de él obtenidos y/o de sus subproductos o sus desechos. Ejemplos de estas zoonosis son la escabiosis, la triquinelosis o la teniasis.

-**Zoonosis transmitidas por medio de vectores:** artrópodos que mantienen la cadena de transmisión de la enfermedad entre los animales y el ser humano. Ejemplos de estas zoonosis son el paludismo, las tripanosomiasis o la enfermedad de Lyme.

Actualmente hay descritas cerca de 200 enfermedades zoonóticas que pueden afectar al ser humano (Guía CAM, 2014). Algunas de las más significativas por los perjuicios que ocasionan, se recogen en la Tabla 1. En los países en vías de desarrollo, son una importante causa de morbi-mortalidad y suponen cuantiosas pérdidas económicas. Su aparición se deriva de la convivencia con animales, la ausencia de infraestructuras sanitarias y el bajo nivel educativo. En los países desarrollados, se relacionan con el incremento de población en áreas urbanas que conviven con animales de compañía, el crecimiento de núcleos urbanos periféricos que presentan condiciones de higiene, abastecimiento de agua y alcantarillado deficiente, pacientes inmunodeprimidos, aumento de viajes a zonas endémicas, aumento de la inmigración desde países endémicos, incremento del comercio internacional de animales y productos de origen animal, destrucción del medio ambiente y finalmente al incremento del tráfico de animales exóticos (Guía CAM, 2014).

**Tabla 1. Principales enfermedades zoonóticas transmisibles al hombre desde los animales domésticos.** Adaptada de Goodwin *et al.*, 2012.

<b>Reservorios animales</b>	<b>Enfermedades zoonóticas</b>
<b>Animales de compañía (gatos, perros, caballos)</b>	Toxoplasmosis, fiebre Q, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, <i>Capnocytophagacanimorsus</i> , peste, bartonellosis, rabia, leptospirosis, tuberculosis, leishmaniosis, hidatidosis, toxocariosis, giardiosis, criptosporidiosis
<b>Ganado (bovino, ovino, suino)</b>	Fiebre Q, enfermedad de Creutzfeldt-Jacob, fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, tuberculosis, leptospirosis, fiebre del Valle del Rift, brucelosis, toxoplasmosis, encefalitis japonesa, campylobacteriosis, tuberculosis, estreptococcosis, tularemia, fasciolosis, trichinellosis, giardiosis, criptosporidiosis
<b>Aves de corral</b>	Campylobacteriosis, chlamydiosis, salmonellosis, gripe aviar

Aunque los individuos más susceptibles de contraer una enfermedad zoonótica son los niños, personas inmunodeprimidas y las personas cuya actividad laboral se desarrolla con animales y/o productos derivados de los mismos (ganaderos, agricultores, matarifes, personal de laboratorio y veterinarios), la población general puede adquirir diversas zoonosis como consecuencia del contacto con animales domésticos (perros, gatos, caballos, entre otros) o silvestres.

El 61% (868/1415) de los organismos infecciosos reconocidos como patógenos para los seres humanos, son zoonóticos. Además, el 60% de las enfermedades infecciosas emergentes en humanos están catalogadas como zoonosis y en la mayoría de ellas (72%) el reservorio es la fauna silvestre (Jones *et al.*, 2008). Por ello, no es sorprendente que el reservorio silvestre haya recibido una creciente atención en los últimos años, no solo por actuar como potencial fuente de infección para los animales domésticos y los seres humanos (Kruse *et al.*, 2004; Chomel *et al.*, 2007), sino también por ser receptor de agentes patógenos provenientes de ciclos de transmisión domésticos implicando tanto ganado como animales de compañía (Thomson, 2013).

En los últimos años se han elaborado numerosos estudios (Díaz Videla & Olarte, 2016; González Ramírez, *et al.*, 2011; Hugues, *et al.*, 2015) sobre las bondades de tener un animal de compañía. Así, se ha observado que mejoran el estado de ánimo de las



personas, aumenta la capacidad de tener relaciones sociales y la empatía, se reduce el stress, e incluso parece disminuir el riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares. En niños contribuyen a reducir la gravedad de enfermedades como el asma (Almqvist, *et al.*, 2003), la rinitis alérgica o la dermatitis atópica (Thorsteinsdottir, 2016), entre otras patologías. Además, muchos dueños consideran a sus mascotas como un miembro más de su familia, evidenciando la importancia psico-afectiva de los animales en la sociedad (Reaser *et al.*, 2008). Esto se ve reflejado en el incremento del número de mascotas en Europa y en EE.UU, de forma que un 50-60% de los hogares tienen un animal de compañía.

En contrapartida, se ha incrementado a su vez, el riesgo de sufrir una zoonosis (Chomel & Sun, 2011). De hecho, las zoonosis de reservorio canino tienen un especial impacto e importancia por ser el perro el animal más estrechamente relacionado con el hombre y, por tanto, un gran potencial transmisor de enfermedades zoonóticas.

El 95% (274/287) de los helmintos tienen a los animales domésticos o salvajes como reservorios naturales de dichos parásitos (Taylor *et al.*, 2001). Según Bowman (2009), la importancia de geohelmintos como el ascárido *Toxocara canis*, el tricocéfalo *Trichuris vulpis* o las uncinarias, está frecuentemente infravalorada por veterinarios y público en general, aunque son los helmintos más relevantes en términos de distribución geográfica e importancia clínica. La presencia de huevos embrionados o larvas en el ambiente, constituye un riesgo de infección con nematodos intestinales de origen canino para las personas y para el resto de animales. De hecho, el ser humano se infecta con más frecuencia con *Toxocara canis* y con *Ancylostoma caninum*, a partir del suelo contaminado que directamente del animal (Holland & Smith, 2006; Roddie *et al.*, 2008). Estudios en varios países han demostrado una alta tasa de contaminación de muestras ambientales (suelo y hierba) con elementos parasitarios infectantes en todo tipo de lugares públicos, incluyendo calles, parques, plazas, carriles bici, areneros infantiles, playas y otras áreas urbanas. Cuando se hace uso de estas zonas, la gente suele llevar a sus mascotas con ellos. Tanto los perros con dueño como los abandonados, pueden defecar en calles y áreas públicas contaminando el medio ambiente con parásitos y favoreciendo, así, la transmisión zoonótica y la infección o reinfección de otros animales (Traversa, 2014).

El control de las enfermedades zoonóticas supone un elevado gasto de los recursos económicos a nivel global. Además, es necesario aplicar medidas de contingencia casi de forma constante debido a las fluctuaciones y cambios que se producen en el comportamiento de los grupos de población humanos, así como en el medio ambiente que pueden favorecer en ciertas circunstancias la expansión de este tipo de enfermedades (Estrada-Peña *et al.*, 2014).

Una de las medidas de control de las enfermedades zoonóticas es la vigilancia epidemiológica. En España, la fuente de información utilizada fundamentalmente es el Sistema de Notificación de Enfermedades de Declaración Obligatoria (SNEDO) en sus tres modalidades, semanal numérica, semanal con datos epidemiológicos básicos y urgente con datos epidemiológicos básicos.

En nuestro país, en 1996 se produjo una modificación de la normativa en materia de declaración de enfermedades, de tal manera que sólo permanecían a nivel nacional como enfermedades de declaración obligatoria la brucelosis, la triquinosis y la rabia, en el SNEDO. El resto de las enfermedades zoonóticas incluidas en el sistema anterior habían pasado a ser consideradas como enfermedades endémicas de distribución regional, quedando su vigilancia a criterio de cada Comunidad Autónoma. Sin embargo, una reciente modificación de esta normativa, entrada en vigor el día 18 de marzo de 2015 vuelve a incluir zoonosis parasitarias como la giardiosis, la criptosporidiosis, la leishmaniosis, el paludismo, la toxoplasmosis, la triquinosis y la hidatidosis, en el ámbito nacional permitiendo, al menos en teoría, una mejor vigilancia de la incidencia y las tendencias epidemiológicas de estas enfermedades (BOE nº 65, 2015).

Sin embargo, los datos procedentes del SNEDO son insuficientes para tener una información completa de la aparición y evolución de las zoonosis, por lo que estos datos deben ser completados con información procedente de otras fuentes como el Registro Regional de casos, la Encuesta de Morbilidad Hospitalaria, el Sistema de Notificación de Laboratorios de Microbiología o el Conjunto Mínimo Básico de Datos (Guía CAM, 2014).

Con respecto al control de las enfermedades zoonóticas, cabe destacar que supone un elevado gasto económico para los diferentes países afectados en áreas

endémicas. Cada una de las enfermedades zoonóticas parasitarias conlleva un cuantioso impacto socio-económico asociado a costes directos, indirectos e intangibles.

-Costes directos, se hace referencia a ellos en relación al diagnóstico de la enfermedad, tratamiento quirúrgico o farmacológico, atención médica y hospitalización en humanos.

-Costes indirectos, comprenden las pérdidas económicas derivadas de la reducción de las tasas de crecimiento, fecundidad y producción cárnica y lechera en ganado, así como la pérdida de productividad en humanos asociadas, principalmente a las bajas laborales y al grado de discapacidad causado por la enfermedad.

-Costes intangibles, relacionados principalmente con la disminución de la calidad de vida relacionada con la salud (Torgerson, 2011).

## 2. CONCEPTO DE SALUD ÚNICA

Este escenario ha contribuido al establecimiento del concepto de Salud Única (Fig. 1), que ha sido definido como el esfuerzo de colaboración de múltiples disciplinas –trabajando local, nacional y globalmente– para alcanzar una óptima salud para las personas, los animales y el medioambiente (*American Veterinary Medical Association*, 2008). Bajo este enfoque, la salud animal y la sanidad medioambiental se consideran mutuamente dependientes e interrelacionadas y, por tanto, deben ser consideradas de forma conjunta (Alexander *et al.*, 2012; Thomson, 2013).

En los últimos años, las enfermedades desatendidas zoonóticas han adquirido un mayor interés en cuanto a la aplicación de medidas de control y eliminación, tanto a nivel regional como global (OMS, 2012) y se han publicado numerosos artículos relacionados con el efecto de los parásitos en la salud humana y animal y en la búsqueda de interconexiones entre ambas (Blake *et al.*, 2017).

En este sentido una de las zoonosis que más atención ha recibido es *Taenia solium*, responsable de teniosis/cisticercosis y que la OMS considera como una enfermedad erradicable y para la que se han iniciado medidas de eliminación en varias zonas endémicas (OMS, 2015). Además, recientemente se han descrito nuevos helmintos con capacidad zoonótica, que han aparecido por hibridación y/o introgresión.

Así, se han descrito híbridos de *Fasciola hepatica* y *F. gigantica* (Le et al., 2008) y entre diferentes especies de *Schistosoma* humanas y de ganado (Leger & Webster, 2016).



**Figura 1.** Concepto “Salud Única”, que abarca las distintas estrategias de colaboración para proporcionar una salud óptima para las personas y los animales (domésticos y salvajes) y un ambiente saludable, teniendo en cuenta las interacciones entre los tres ámbitos. (Adaptada de: *The outbreak, sourcing infectious disease news, alerts, and popular media*).

### 3. CONCEPTO DE HIGIENE

Entre las definiciones que nos proporciona la Real Academia de la Lengua (RAE) para higiene está “parte de la medicina que tiene por objeto la conservación de la salud y la prevención de enfermedades”. Debemos tener en cuenta que la transmisión de muchas de las enfermedades zoonóticas es consecuencia de una falta de higiene.

La contaminación fecal y la transmisión potencial de parásitos entre seres humanos y poblaciones de perros domésticos representan un problema de salud pública de importancia global (Rubel & Wisnivesky, 2005). Las prácticas higiénicas son imprescindibles como medida de prevención óptima para evitar todo tipo de enfermedades en general y las zoonosis en particular, especialmente en la población infantil. Los niños, desde que nacen hasta que empiezan su educación primaria, desarrollan parte de su aprendizaje a partir de la repetición de las palabras y acciones de los adultos y de la función de sus órganos sensoriales, incluidos el tacto y el gusto (Geary, 2003). Paralelamente, muchas enfermedades parasitarias zoonóticas, utilizan la

vía fecal-oral para transmitirse y completar los ciclos biológicos de los correspondientes agentes etiológicos. Por tanto, serán los niños, que utilizan ese tacto y gusto como herramientas de aprendizaje, los más susceptibles de padecer estas infecciones y hacia los cuáles se deben dedicar las más importantes medidas de prevención y de promoción de la salud, la educación y la higiene.

En Parasitología, la vía fecal-oral, es uno de los medios más sencillos de transmisión de enfermedades. Consiste básicamente en la expulsión de formas parasitarias infectantes (huevos, quistes, ooquistes y esporas) con las heces de un hospedador -animal o ser humano-, infectado, que contaminan el agua o el suelo adyacentes, y la consiguiente ingestión de estas formas parasitarias por otro hospedador de la misma u otra especie. Las formas de control consisten en adoptar medidas higiénicas tales como el lavado de manos constante, sobre todo antes de las comidas, después de ir al baño y especialmente cuando haya existido contacto previo con animales, etc. Los animales deben, además, ser mantenidos en un lugar diferente de la casa al que se utiliza para las comidas. Otras medidas, incluyen el cocinado de los alimentos, la potabilización o desinfección de aguas de consumo y el tratamiento farmacológico periódico tanto de los humanos como de los animales de compañía (Nithiuthai *et al.*, 2004).

#### **4. EL PERRO**

El perro doméstico (*Canis lupus familiaris*) es un mamífero carnívoro de la familia de los cánidos. La domesticación del perro es muy antigua, posiblemente data de hace más de 10.000 años, y estaría relacionada con la evolución humana desde el paso de las poblaciones cazadoras-recolectoras a las poblaciones sedentarias agricultoras, acompañando al hombre como animal de guarda y de caza. El origen del perro está en los lobos silvestres, que posiblemente acudían a las proximidades de los campamentos humanos en busca de comida o de cuidado cuando estaban heridos. Los humanos observarían su utilidad cuando ladraban y alertaban de posibles invasores y poco a poco se irían seleccionando los “proto-perros” (antecesores del perro actual) del resto de los lobos en función de su mansedumbre y de su sociabilidad (Driscoll *et al.*, 2009). Esta

relación ha evolucionado hasta convertirse en una nueva forma de interacción hombre-animal que ha proporcionado grandes beneficios para las actuales sociedades humanas, contribuyendo a la integridad física y al bienestar social y emocional de sus propietarios, especialmente de los niños.

A pesar de los efectos beneficiosos del perro sobre el hombre, estos animales siguen suponiendo un grave problema de salud pública, ya que albergan una gran cantidad de parásitos transmisibles al ganado, la fauna silvestre y a los seres humanos (Awoke *et al.*, 2011). Hay más de sesenta enfermedades de carácter zoonótico asociadas a los perros. Muchas de ellas son originadas por parásitos, transmitidas por vía fecal-oral y responsables de graves enfermedades en el hombre. Entre ellas están la hidatidosis, la larva *migrans* visceral, ocular o la larva *migrans* cutánea, la giardiosis y la criptosporidiosis (Soriano *et al.*, 2010).

*Toxocara canis* y *Ancylostoma caninum*, son las principales especies de nematodos zoonóticos que afectan a los perros en el mundo. Otras especies de ascáridos y ancilostómidos pueden estar presentes en áreas geográficas concretas. Así, *Toxascaris leonina* es frecuente en Europa y EE.UU., *Uncinaria stenocephala* en las zonas más frías de las regiones templadas y subárticas y *Ancylostoma braziliense* en el hemisferio sur. Otro nematodo, *Trichuris vulpis*, que se localiza en el intestino grueso de estos animales, presenta una distribución cosmopolita y está adquiriendo relevancia en los últimos años porque parece que también puede tener carácter zoonótico (Kagei *et al.*, 1986).

Por otro lado, aunque las mayores tasas de infección y cargas parasitarias y por tanto la mayor eliminación de huevos en heces se produce en cachorros, este grupo de enfermedades parasitarias puede afectar a perros de cualquier edad, raza o categoría, incluso aunque se hayan aplicado campañas de control de forma regular (Traversa *et al.*, 2014).

Entre los cestodos con relevancia zoonótica del perro, *Echinococcus* es el género de mayor importancia por las graves patologías que produce en el hombre. La incidencia en perros varía con las áreas geográficas, estando especialmente ligada a áreas rurales con una elevada actividad ganadera donde el parásito se transmite en un ciclo doméstico en el que interviene el perro como hospedador definitivo y el ganado ovino como principal hospedador intermediario.

En cuanto a los protozoos de carácter zoonótico, los más importantes son los pertenecientes a los géneros *Giardia* y *Cryptosporidium*. Aunque se conoce el papel de los perros como reservorios de estos parásitos, existe gran controversia en cuanto a la importancia real de estos animales como reservorios de enfermedad humana, debido a la reciente descripción de variantes genéticas mediante técnicas de biología molecular con diferentes especificidades y rangos de hospedadores y a que presentan un diferente comportamiento según el hospedador (Bowman & Lucio-Forster, 2010).

## 5. PRINCIPALES PARÁSITOS INTESTINALES DEL PERRO

### 5.1. CESTODOS

#### *Echinococcus* spp.

Reino Animalia. Linnaeus, 1758

Platyzoa Ax, 1987

Phylum Platyhelminthes. Gegenbaur, 1859

Subphylum Neodermata (Ehlers, 1985) Cavalier-Smith, 1998

Clase Cestoda

Orden Cyclophyllidea. Van Beneden, 1900

Familia Taeniidae. Ludwig, 1886

Género *Echinococcus*. Rudolphi, 1801

*Echinococcus granulosus* es el agente etiológico de la hidatidosis o equinococosis quística en el hombre, enfermedad zoonótica ocasionada por las fases larvarias de este cestodo. Sus hospedadores definitivos son los perros y los cánidos silvestres y los hospedadores intermediarios son algunos mamíferos incluido el hombre. En éstos, las larvas se alojan en diferentes órganos, principalmente hígado y pulmones.

La **equinococosis quística**, la forma más común de la enfermedad en personas y animales de producción (ovejas, cabras, cerdos, caballos y vacas, principalmente), es ocasionada por *Echinococcus granulosus sensu lato*. Las larvas se desarrollan como quistes únicos independientes, que crecen lentamente a lo largo de la vida del hospedador intermediario ocasionando diferentes manifestaciones clínicas según la

localización en el organismo. Si las vísceras infectadas se utilizan para alimentar a los perros, éstos desarrollarán en su intestino las formas adultas del parásito, como se puede ver en la figura 2, que son las responsables de producir huevos, que serán posteriormente eliminados con las heces del perro. Los hospedadores intermediarios se infectan por vía fecal-oral, tras la ingestión de agua y alimentos contaminados con heces que contengan huevos, los cuales son muy resistentes a condiciones climáticas extremas, así según un estudio realizado en la Patagonia Argentina, han sido capaces de desarrollar la enfermedad en animales incluso después de permanecer hasta 41 meses bajo condiciones ambientales áridas y temperaturas comprendidas entre 37° C y -3° C (Thevenet *et al.*, 2005).

La **equinococosis alveolar**, causada por *E. multilocularis*, es menos frecuente que la equinococosis quística, pero es más grave y difícil de tratar. Las larvas de este organismo forman quistes multiloculares infiltrativos que afectan primariamente al hígado, donde se desarrollan de manera similar a la de un tumor maligno. En este caso los hospedadores intermediarios, además del ser humano, son micromamíferos poco longevos como ratones, ratas y topillos camperos, pero también lagomorfos como conejos y liebres (Otero-Abad & Torgerson, 2013).

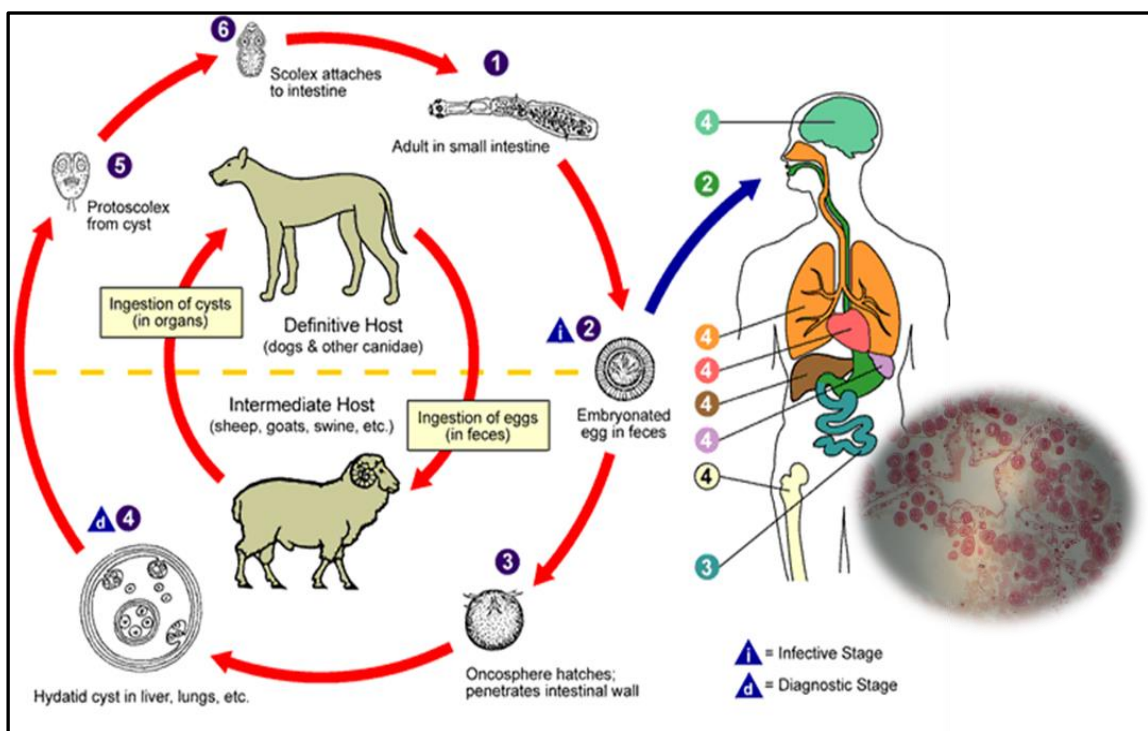
Otras especies muy poco frecuentes en el hombre son *E. ortleppi*, *E. canadensis* y *E. felidis*, causantes de una patología similar a la causada por *E. granulosus*.

Por otro lado, *E. vogeli* y *E. oligarthrus* son responsables de la **equinococosis poliquistica** (Nakao *et al.*, 2013).

La especie más prevalente por su distribución cosmopolita, es *E. granulosus sensu lato (s.l.)*, que por otra parte es la que aparece con mayor frecuencia en España. Mediante técnicas de biología molecular se han identificado 10 genovariedades (G1-G10), entre ellas se incluyen dos, que son las que más frecuentemente aparecen en ovinos (G1 y G2), dos en bóvidos (G3 y G5), una en equinos (G4), una en camélidos (G6), una en porcino (G7) y una en cérvidos (G8). Además, se ha identificado una en porcino en Polonia (G9) y otra en cérvidos (renos) en Eurasia (G10). De todas las genovariedades, la de más amplia distribución en el mundo es la de oveja G1 y además, es la que más a menudo se asocia a infecciones humanas (Moro & Schantz, 2009). Por otra parte, las investigaciones en este campo continúan y siguen apareciendo nuevos estudios de



variantes génicas (Wasserman *et al.*, 2016); y de re-clasificaciones taxonómicas (Roming & Wasserman, 2015). Recientemente, se ha propuesto que algunos de estos genotipos o grupos de genotipos merezcan el estatus de especie: G1–G3 como *E. granulosus sensu stricto*, G4 como *E. equinus*, G5 como *E. ortleppii* G6–G10 como *E. canadensis* (Nakao *et al.*, 2007; Thompson, 2008; Alvarez-Rojas *et al.*, 2014). Además, se ha descrito una nueva especie en zorros del Tíbet, *E. shiquicus* (Xiao *et al.* 2005) y se admite ya que *E. felidis* Ortlepp, 1937 está reaceptada como una especie distinta, en lugar de estar incluida dentro del complejo *E. granulosus s. s.* (Hüttner *et al.*; 2008, Saarma *et al.*, 2009).



**Figura 2.** Ciclo biológico de *Echinococcus granulosus sensu lato*. Adaptado de CDC (<https://www.cdc.gov/parasites/echinococcosis/biology.html>)

En algunos países, la equinococosis unilocular es un importante problema de salud pública, y en ciertas áreas puede estar emergiendo o reemergiendo. Se cree que se producen aproximadamente 2-3 millones de casos en humanos en el mundo. A finales del siglo XX se había reducido la incidencia y la prevalencia de la hidatidosis por *Echinococcus granulosus* debido a la aplicación de diversas medidas de control. Sin embargo, en los últimos años la enfermedad ha vuelto a emerger como un grave problema de salud pública en numerosos países como consecuencia de la reducción o discontinuación de los programas de control a causa de la recesión económica. Las

regiones de mayor prevalencia en humanos y animales son países de las zonas templadas de Eurasia (como los países de la Cuenca Mediterránea, Rusia o China), Australia, América del Sur, norte y este de África (Grosso *et al.*, 2012). Las especies más frecuentes en Europa se recogen en la tabla 2, donde se indica además su importancia zoonótica.

**Tabla 2. Especies de *Echinococcus* en Europa, con sus hospedadores intermediarios y definitivos** (adaptado de Baneth *et al.*, 2016).

Especies de <i>Echinococcus</i>	Cepa de <i>Echinococcus</i> o genovariedad	Hospedador definitivo	Hospedador intermediario	Importancia zoonótica
<i>E. granulosus</i> s.s	Oveja (G1,2,3)	Perro (zorro)	Ovejas, vacas, cerdos, herbívoros	+++
<i>E. ortleppi</i>	Bovidos (G5)	Perro	Vacas	+
<i>E. canadensis</i>	Cervidos (G8, 10)	Lobo (perro)	Cervidos	+
<i>E. canadensis</i> (=E.intermedius)	Cerdo (G7)	Perro (lobo)	Cerdos, herbívoros	++
<i>E. equinus</i>	Caballo (G4)	Perro	Équidos	-
<i>E. multilocularis</i>	Cepa europea	Zoro, perro, mapache, gato	Micromafiferos	+++

Importancia zoonótica: - ninguna, + baja, ++ media, +++ moderada

Toda la Cuenca Mediterránea, incluyendo los países de la Península Arábiga, se considerada como área endémica de hidatidosis, con tasas de incidencia en humanos de 4-8/100.000 hab. En España, la hidatidosis afecta principalmente regiones del noreste, centro y oeste del país, donde la prevalencia ha aumentado en los últimos años. Las genovariedades más frecuentes son la de oveja (G1), cerdo (G7) y caballo (G4) (Mwambete *et al.*, 2004, Carmena *et al.*, 2008).

En la provincia de Álava, dos encuestas recientes han documentado una prevalencia de *E. granulosus* del 8% en perros (Benito *et al.*, 2006) y de un 15% en los lobos ibéricos (Sobrino *et al.*, 2006). En Madrid, se ha detectado una tasa de infección en ovejas del 2,88% (Rodrigo *et al.*, 1997). En la región de La Rioja, se ha determinado que la prevalencia en ovejas adultas es del 20%. Y en otras zonas del centro y noreste del país puede llegar hasta el 23% en ovejas y vacas (Jiménez *et al.*, 2002).

Con respecto a la hidatidosis humana, la mayor incidencia se da en Salamanca, con tasas de 10,8 / 100.000 habitantes (entre 1980 y 2000). En el resto del país oscila

entre 1,1 y 3,4 casos por cada 100.000 habitantes (Pardo *et al.*, 2005). En nuestro país, los factores de riesgo son la cría extensiva o semi-extensiva de ovejas, las matanzas ilegales y el alto número de perros pastores y asilvestrados (Grosso *et al.*, 2012; Herrador *et al.*, 2016).

En el pasado, la cirugía ha sido el único tratamiento para los quistes hidatídicos en humanos. Más recientemente, la quimioterapia, la punción del quiste y el PAIR (aspiración percutánea, inyección de fármacos y reaspiración) se han utilizado para reemplazar la cirugía como tratamientos eficaces para la hidatidosis quística. En los casos en los que no se requiere intervención inmediata (por ejemplo en quistes calcificados o inactivos) el procedimiento más habitual es la monitorización de la evolución de la enfermedad, lo que recibe el nombre de “*watch and wait*” (observar y esperar) (CDC, 2013). Las indicaciones del tratamiento varían de acuerdo con las características del quiste, incluyendo el tipo, localización, tamaño y sus posibles complicaciones posteriores. La cirugía puede ser el método de preferencia para quistes hepáticos que están infectados o quistes localizados en el cerebro, los pulmones o los riñones. Algunos quistes abdominales pueden ser tratados mediante la inyección intra-quística de soluciones químicas protoescolicidas, seguido de su extirpación.

Además, la quimioterapia puede ser muy eficaz cuando se utiliza junto con la cirugía. Se ha administrado albendazol a los pacientes antes de la cirugía con el propósito de facilitar la manipulación quirúrgica segura de los quistes mediante la inactivación de los protoescolices, la alteración de la integridad de las membranas de los quistes y la reducción de su turgencia (CDC, 2013). Por último, el praziquantel puede ser útil antes de la cirugía o en caso de derrame del contenido del quiste durante los procedimientos quirúrgicos (Bygott & Chiodini, 2009).

### ***Dipylidium caninum***

Reino Animalia. Linnaeus, 1758

Phylum Platyhelminthes. Gegenbaur, 1859

Subphylum Neodermata (Ehlers, 1985) Cavalier-Smith, 1998

Infraphylum Cercomeromorpha (Bychowsky, 1937) Cavalier-Smith, 1998

Clase Cestoda

Subclase Eucestoda

Orden Cyclophyllidea. Van Beneden, 1900

Familia Dipylidiidae. Stiles, 1896

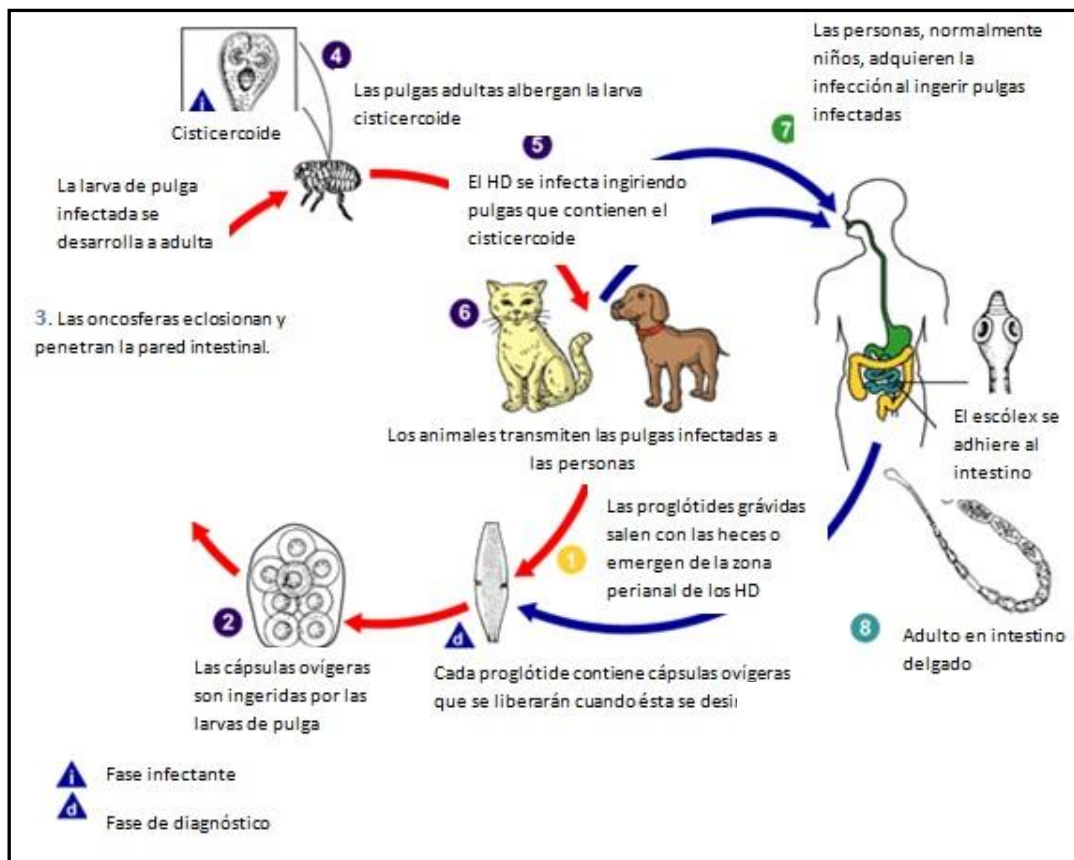
Género *Dipylidium*. Leuckart, 1863

Especie *D. caninum*. Linnaeus, 1758

*D. caninum* es un cestodo de perros y gatos, de ciclo biológico indirecto (figura 3), cuyo hospedador intermediario son larvas de pulgas, donde se desarrollan las formas larvianas del parásito (cisticercoide). Tras la ingestión de pulgas infectadas por perros o gatos, las larvas maduran en el intestino de estos animales hasta las formas adultas, que eliminarán unas estructuras especiales llamadas cápsulas ovíferas conteniendo huevos infectantes para las pulgas. El hombre puede ingerir accidentalmente pulgas y desarrollar las formas adultas. Los casos recogidos en la literatura de infecciones en humanos proceden de Europa, Filipinas, China, Japón, América Latina y los Estados Unidos, afectando en la mayoría de los casos a niños. La infección suele ser asintomática. El adulto se desarrolla en 3 a 4 semanas después de la infección y la carga parasitaria está directamente relacionada con el número de larvas cisticercoides presentes en las pulgas y el número de insectos ingeridos. La carga parasitaria en los seres humanos es generalmente baja y entre las manifestaciones clínicas se observan alteraciones del apetito, diarrea ocasional, inquietud, agitación, dolor epigástrico, estreñimiento y en niños mayores picazón anal y dolor (Cabello *et al.*, 2011). El tratamiento indicado para los casos en humanos es la niclosamida y el praziquantel que, aunque no está autorizado para su uso en menores de 4 años, ha sido utilizado con éxito en infestaciones de bebés de 6 meses (CDC, 2013).

Existen pocos datos de la prevalencia de este parásito en perros, y varían según las zonas de estudio y el método de análisis, así, es de un 45,7% en Fortaleza (Brasil) mediante necropsia, un 2,3% en Yucatán (México) o un 4% en Pomerania (Polonia) mediante el análisis de heces (Klimpel *et al.*, 2010; Tylkowska *et al.*, 2010; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

En un estudio reciente realizado en Europa en pulgas del género *Ctenocephalides*, que son ectoparásitos muy frecuentes en perros y gatos, se analizó la presencia de *Dipylidium caninum* mediante métodos moleculares debido a la baja sensibilidad que suelen presentar las técnicas coprológicas para detectar este parásito. Para ello se diseñó una PCR, que se aplicó sobre 2828 pulgas *Ctenocephalides canis* y 2701 pulgas *Ctenocephalides felis* y se comprobó que el 3,1% de las pulgas de los perros y el 2,23% de las pulgas de los gatos estaban infectadas por este parásito (Beugnet *et al.*, 2014).



**Figura 3.** Ciclo biológico de *Dipylidium caninum*  
Tomado de CDC (<http://www.cdc.gov/parasites/dipylidium/biology.html>)

### **Taenia spp.**

Reino Animalia. Linnaeus, 1758

Phylum Platyhelminthes. Gegenbaur, 1859

Subphylum Neodermata (Ehlers, 1985) Cavalier-Smith, 1998

Infraphylum Cercomeromorpha (Bychowsky, 1937) Cavalier-Smith, 1998

Clase Cestoda

Subclase Eucestoda

Orden Cyclophyllidea. Van Beneden, 1900

Familia Taeniidae. Ludwig, 1886

Subfamilia *Taeniina*. Ludwig, 1886

Género *Taenia*. Linnaeus, 1758

El género *Taenia* incluye a diversos cestodos que parasitan a un elevado número de especies de animales, incluidos perros, gatos, ganado, vertebrados salvajes y el ser humano.

El perro y los cánidos silvestres son hospedadores definitivos, existiendo una gran abundancia de hospedadores intermediarios. En general es mayor en regiones rurales ganaderas, donde tanto perros como gatos tienen fácil acceso a carnes y órganos de hospedadores intermediarios infectados, tanto domésticos como silvestres. Las especies de mayor importancia veterinaria son:

- ***Taenia hydatigena***: hospedadores intermediarios: bovinos, ovinos, caprinos y porcinos
- ***Taenia multiceps***: hospedador intermediario: ovinos
- ***Taenia pisiformis* y *Taenia serialis***: hospedador intermediario: roedores (p.ej. ratones y ratas) y lagomorfos (p.ej. conejos y liebres)
- ***Taenia taeniaeformis***: hospedador intermediario: roedores.
- ***Taenia brauni***: roedores
- ***Taenia glomerata***: gerbillos

Las formas adultas del parásito se localizan en el intestino delgado del hospedador definitivo (perros y otros cánidos). Las formas larvianas (cisticercos o coenuros) se pueden alojar en diversos órganos y tejidos, como músculos, cerebro, corazón, hígado, etc, de los hospedadores intermediarios, variando dicha localización según la especie.

Los adultos pueden llegar a alcanzar varios metros de longitud y son de color blanquecino. El escólex está dotado de ventosas y/o ganchos para fijarse a la pared

intestinal. El cuerpo del parásito está constituido por segmentos o proglótides que van madurando conforme se alejan del escólex.

Los huevos de *Taenia* spp. presentan un pequeño tamaño (30 a 40  $\mu\text{m}$ ) y tienen una forma casi esférica. Cada huevo contiene un embrión llamado oncosfera o embrión hexacanto, que está dotado de 3 pares de ganchos y que queda rodeado de una capa gruesa estriada radialmente, denominada embrioforo. Es imposible distinguir morfológicamente los huevos de las diferentes especies dentro de la familia Taeniidae, lo cual supone un grave problema en cuanto a la identificación de la especie.

En el hospedador definitivo, los huevos se excretan con las heces, a menudo dentro aún de los segmentos grávidos. Los huevos son directamente infectivos tras la excreción y pueden sobrevivir durante meses en el exterior, según las condiciones ambientales y la especie. El hospedador intermediario ingiere los huevos a través de alimentos o agua contaminados. Una vez en el intestino se liberan las oncosferas, que atraviesan la pared intestinal, alcanzan el flujo sanguíneo y son transportadas hasta su localización definitiva, donde se desarrollan a cisticercos/coenuros.

A su vez, el hospedador definitivo adquiere la infección al ingerir carne u otros órganos infectados de hospedadores intermediarios. En su intestino se liberan las larvas, que se fijan a la pared intestinal y se desarrollan hasta alcanzar el estado adulto, momento en el que las proglótides maduras producen los huevos que saldrán con las heces, cerrando así el ciclo. En este hospedador, los adultos pueden vivir durante varios años.

Estas tenias no son parásitos propios del ser humano, como sí lo son *T. solium* y *T. saginata*. Sin embargo, el ser humano puede ingerir de forma accidental los huevos de estos parásitos, de forma que desarrollará las formas larvarias que van a provocar diferentes síntomas dependiendo de la zona afectada:

- Piel o tejido subcutáneo: nódulos normalmente indoloros, presentes en cabeza, hombros y extremidades.

- Cuello: puede afectar al movimiento del cuello y la deglución. Pueden confundirse con linfomas, lipomas, neurofibromas o tumores.

-Sistema Nervioso Central: puede causar dolor de cabeza, fiebre, vómitos, parálisis, epilepsia, arteritis intracraneal y hemiparesia transitoria, principalmente.

-Ojo: puede provocar infecciones orbitales e intraoculares. Además, los pacientes afectados pueden presentar diferentes grados de discapacidad visual. Si no se eliminan, el ojo puede presentar inflamación dolorosa, glaucoma y finalmente, ceguera permanente.

Los casos en humanos no son muy frecuentes y en ocasiones es difícil diferenciar la especie concreta responsable de la patología, llegando incluso a ser confundidos con quistes hidatídicos o cisticercos de *T.solium* (Mahadevan *et al.*, 2011; Lescano *et al.*, 2013).

En cuanto al tratamiento, la extracción quirúrgica es la primera opción. Las larvas coenuro parecen ser sensibles al tratamiento farmacológico con praziquantel, sin embargo, este fármaco puede provocar endoftalmítis tóxica y acelerar la pérdida de visión en los casos en que la larva esté localizada en el ojo (Ing *et al.*, 1998; CDC, 2013).

## **5.2. NEMATODOS**

### ***Toxocara canis***

Reino Animalia. Linnaeus, 1758

Filo Nematoda. Rudolphi, 1808

Clase Secernentea. Von Linstow, 1905

Subclase Rhabditia

Orden Ascaridida

Suborden Ascaridina

Superfamilia Ascaridoidea

Familia Toxocaridae

Género *Toxocara*. Stiles, 1905

Especie *Toxocara canis*. Werner, 1782



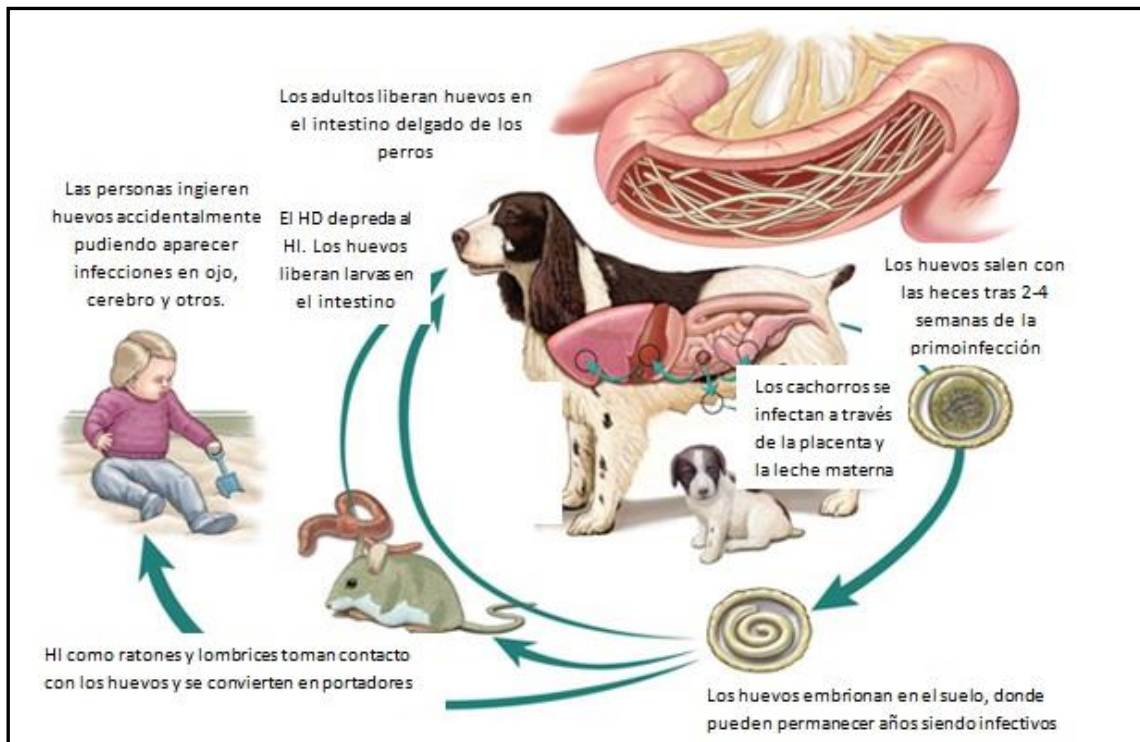
En el ciclo biológico de *T. canis*, el hombre se comporta como un hospedador paraténico y se infecta cuando ingiere accidentalmente huevos embrionados del parásito. Aunque el huevo es capaz de eclosionar en el intestino, la larva no puede completar su ciclo en el hombre, por lo que se produce un fenómeno de larva migratoria, bien visceral u ocular.

Los cachorros de perro son la principal fuente de contaminación ya que éstos son los hospedadores definitivos que sufren un ciclo entero-neumo-entérico (Fig. 4) y desarrollan los adultos en su intestino. Tras la cópula, la hembra produce huevos que son eliminados con las heces. Los huevos, no embrionados, deben madurar en el suelo. El tiempo de embrionamiento varía entre 3-6 o más semanas en función del tipo de suelo y las condiciones ambientales de temperatura y humedad. Los huevos son muy resistentes y se mantienen viables más de un año en climas templados, e incluso 2-4 o más años (Azam *et al.*, 2012). Existen una serie de factores que van a afectar negativamente la viabilidad de los huevos, como el pH del suelo, la vegetación, tipo de suelo (por ej. arcillosos), humedad y la luz solar (Trejo *et al.*, 2012).

Diversos estudios han demostrado que la tasa de contaminación del suelo (patios, cajones de arena, parques, patios de recreo, playas y otros lugares públicos) en diferentes países del mundo es muy elevada, del orden del 10-30% (Mizgajska-Wiktor & Uga, 2006).

No se sabe con exactitud la cantidad de huevos eliminados por los hospedadores, pero si se ha comprobado que los huevos son fácilmente dispersados por el movimiento de dichos hospedadores, aves, babosas, lombrices, escarabajos, moscas y por la lluvia (Beer *et al.*, 1999)

Es difícil diferenciar al microscopio los huevos de *T. canis* de los de *T. cati*, a pesar de que los primeros suelen ser ligeramente más grandes. Sin embargo, el análisis de la ITS-2 (internal transcribed spacer-2) del ADNr mediante PCR, permite una identificación especie-específica (Jacobs *et al.*, 1997).



**Figura 4.** Ciclo biológico de *Toxocara canis*  
 Adaptada de <http://imgarcade.com/1/toxocara-canis-worm/>

Diversos estudios epidemiológicos han demostrado que *T. canis* es uno de los parásitos zoonóticos más prevalentes y ubicuos desde el sub-Ártico a los trópicos. (Messier *et al.*, 2012; Fan *et al.*, 2013; Jenkins *et al.*, 2013).

La prevalencia global de *Toxocara* spp en humanos está influenciada por un complejo número de variables ligadas al medio ambiente y a factores geográficos, culturales y socio-económicos, pero también a factores individuales como el estado inmunitario, co-infecciones, genética, edad, género, estado nutricional y el comportamiento humano (Macpherson, 2013; Viney & Graham, 2013).

Estos factores junto con el incremento de la población, la globalización, las migraciones del ámbito rural al urbano y el mayor contacto con los hospedadores definitivos están favoreciendo el incremento de la prevalencia de esta parasitosis.

Por otro lado, la transmisión y los factores de riesgos varían enormemente según los países. La pobreza, la falta de educación, la ausencia/deficiencia de tratamiento de los hospedadores definitivos da lugar a ambientes altamente contaminados con huevos

Los niños son los individuos más susceptibles de infectarse de *Toxocara*, debido a su comportamiento, ya que suelen comer tierra, chupar objetos, comer lombrices y es frecuente que tengan poca higiene, y además suelen jugar con las mascotas.

Las encuestas serológicas, llevadas a cabo principalmente en niños, sugieren que la prevalencia en países industrializados varía entre el 0,7% en Nueva Zelanda, un 1,6% en Japón, el 2,4% en Dinamarca, el 7,5% en Australia, 14% en los EE.UU. y 15% en Polonia. Aunque las seroprevalencias más altas se han registrado en países tropicales en vías de desarrollo, un 30% en Nigeria, 45% en Swazilandia, un 93% en La Reunión (África), un 81% en Nepal, 63,2% en Indonesia, 58% en Malasia, un 36% en Brasil y un 37% en Perú (Macpherson, 2013).

Teniendo en cuenta estos datos de seroprevalencia, se ha estimado que en USA hay entre 1,3-2,8 millones de personas infectadas, indicando que a pesar de ser uno de los países más ricos del mundo, la toxocariosis es un grave problema de salud pública (Hotez, 2008).

Actualmente, en España, se desconoce la prevalencia de la toxocariosis humana, ya que los últimos datos datan de hace más de 15 años (Fenoy *et al.*, 1996; Fenoy *et al.*, 1997).

### ***Toxascaris leonina***

Reino Animalia. Linnaeus, 1758

Filo Nematoda. Rudolphi, 1808

Clase Secernentea. Linstow, 1905

Orden Ascaridida.

Familia Toxocaridae.

Género *Toxascaris*. Leiper, 1907

Especie *Toxascaris leonina*. Linstow, 1902

*T. leonina* presenta un ciclo similar al de *Toxocara*, aunque no hay transmisión transplacentaria ni transmamaria. No se considera zoonótico para el hombre aunque se han descrito varios casos de infecciones en humanos (Traversa, 2012).

## Ancilostómidos

Reino Animalia. Linnaeus, 1758

Filo Nematoda. Rudolphi, 1808

Clase Secernentea. Linstow, 1905

Orden Strongylida

Familia Ancylostomatidae

Género *Ancylostoma*. Creplin, 1895

Especie *Ancylostoma caninum*

Género *Uncinaria*

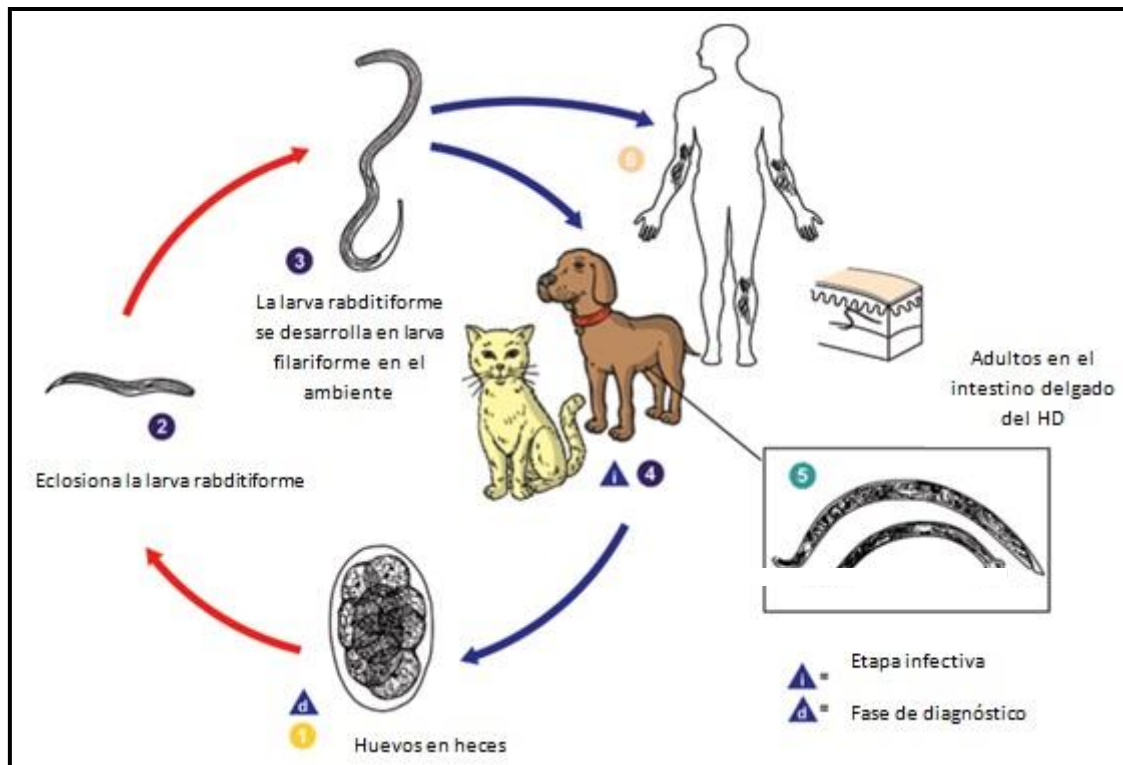
Especie *Uncinaria stenocephala*

Son parásitos cuyas especies más frecuentes en perros son *Ancylostoma caninum*, *A. braziliense*, *A. ceylanicum* y *Uncinaria stenocephala*.

En el ciclo biológico de estos parásitos (Fig. 5), el hombre se comporta como un hospedador parátenico, de forma que las larvas L3 que viven en el suelo son capaces de penetrar por la piel de un hospedador susceptible. Al no poder completar su ciclo en el hombre, estas infecciones producen el síndrome de larva *migrans* cutánea y con menor frecuencia, neumonitis eosinofílica, miositis, foliculitis y eritema. Solo *A. ceylanicum* puede completar el ciclo en el hombre produciendo una enteritis eosinofílica.

En el perro, las larvas L3 completan su ciclo mediante un proceso de migración pulmonar y paso al intestino, donde los adultos ponen huevos que son eliminados con las heces. Los huevos deben embrionar en el suelo y tras su eclosión darán lugar a la larva L1 que termina su maduración hasta larva L3 en el medio ambiente. En cuanto a su distribución geográfica, *Uncinaria stenocephala* es más frecuente en zonas de clima frío en América del Norte y del Sur, Europa, Asia, Australia y Nueva Zelanda. *A. caninum* es más frecuente en zonas cálidas, mientras que *A. ceylanicum* se distribuye en Asia (India, Taiwán, Tailandia, Malasia, Borneo, Indonesia), Australia y América del Sur. Finalmente *A. braziliense* se encuentra a lo largo del sudeste de la costa atlántica de América del Norte, el Golfo de México y el Mar Caribe, en África (Sudáfrica, Somalia,

República Democrática del Congo, Sierra Leona), Australia y Asia (Malasia y Indonesia y Tailandia) (Bowman *et al.*, 2010).



**Figura 5.** Ciclo biológico de los ancilostómidos  
Adaptada de CDC (<http://www.cdc.gov/parasites/zoonotichookworm/biology.html>)

En España la bibliografía es muy escasa en relación a los casos humanos de larva *migrans* cutánea, y la mayoría hacen referencia a formas importadas en viajeros o inmigrantes (Puente-Puente *et al.*, 2004). En cuanto a los casos en perros, por su distribución geográfica, se describen solamente *A. caninum* y *U. stenocephala*. La prevalencia de estos parásitos en poblaciones caninas es muy elevada, considerándose que prácticamente el 100% de los perros, tanto domésticos como abandonados estarán en contacto con alguna de estas especies a lo largo de su vida (Traversa, 2012).

### ***Strongyloides* spp.**

Reino Animalia. Linnaeus, 1758

Filo Nematoda. Rudolphi, 1808

Clase Secernentea. Linstow, 1905

## Orden Rhabditida

### Familia Strongyloidea

#### Género *Strongyloides*. Grassi, 1879

*Strongyloides* spp. infecta a un amplio rango de animales domésticos y salvajes. Los perros suelen estar infectados por *S. stercoralis*, mientras que los gatos pueden estar infectados por diferentes especies según el área geográfica (*Strongyloides felis*, *Strongyloides tumefaciens*, *Strongyloides planiceps* y posiblemente por *S. stercoralis*). (Tabla 3). De todas estas especies solo *S. stercoralis* se considera como zoonótica.

**Tabla 3. Especies de *Strongyloides* presentes en los animales domésticos.** Adaptado de Thamsborg *et al.*, 2017.

Especie	Hospedador	Observaciones
<i>S. stercoralis</i>	Perros, humanos, primates no humanos, canidos salvajes, gatos (?)	L1 en heces, potencialmente zoonótico
<i>S. felis</i>	Gatos	L1 en heces, principalmente en India y Australia
<i>S. tumefaciens</i>	Gatos	L1 en heces, principalmente en India y Norteamérica
<i>S. planiceps</i>	Gatos, canidos silvestres, comadrejas	Japón, Malasia
<i>S. papillosus</i>	Bóvidos, ovejas, cabras, conejos	cosmopolita
<i>S. westeri</i>	Caballos y otros equinos	cosmopolita
<i>S. ransomi</i>	Cerdos, jabalíes	Cosmopolita, baja prevalencia

En el ciclo biológico de *Strongyloides* se alternan formas de vida libre y parasitarias. En la fase de vida libre, las larvas L1 rhabditiformes salen al exterior con las heces de mamíferos infectados como el perro y el hombre. Estas larvas pueden, bien convertirse en filariformes (L3F infectantes), o bien desarrollarse hasta adultos (machos y hembras) de esófago rhabditiforme, que viven en el suelo y que se aparean y ponen huevos. En el ciclo parasitario, las larvas L3 filariformes presentes en suelos contaminados, penetran por la piel y tras migrar por el torrente sanguíneo hasta los pulmones, ascienden por el árbol bronquial, pasan por la epiglotis y por deglución pasan al intestino delgado. Si bien, hay recientes evidencias que demuestran que las larvas L3F pueden migrar directamente al intestino a través de los tejidos conectivos (CDC, 2015). En el intestino delgado mudan dos veces y se convierten en hembras adultas. Las

hembras viven enroscadas en el epitelio del intestino delgado y por partenogénesis producen huevos que dan lugar a larvas rabditiformes. Las larvas rabditiformes pueden, bien ser expulsadas con las heces del hospedador (cerrando el ciclo) o bien causar auto-infección. En este último caso, las larvas pasan de rabditiformes a filariformes (infectantes), que pueden penetrar a la mucosa intestinal (autoinfección interna) o a la piel de la zona perianal (auto-infección externa). La auto-infección puede explicar la existencia de infecciones prolongadas durante años en personas que no han estado en un área endémica y de hiperinfecciones en individuos inmunodeprimidos (Rodríguez-Hernández, *et al.*, 2009).

Se ha sugerido la existencia de dos cepas o variedades, una humana y otra canina. Y se ha comprobado que el fenómeno de auto-infección (capacidad de pasar de L1 a adulto sin abandonar el hospedador) no parece ocurrir en la cepa canina en condiciones normales. Sin embargo, si un perro está infectado por la cepa humana si se puede producir auto-infección, pero tras varias generaciones, revierte a una infección normal, con la salida de la L1 al medio ambiente (Genta, 1989). Por otro lado, si que se ha observado la hiperinfección en perros neonatos o en tratamiento con esteroides (Thamsborg *et al.*, 2017).

Se han realizado diversos estudios para tratar de demostrar la capacidad zoonótica de este parásito, para ello se han infectado experimentalmente perros con *S. stercoralis* obtenidos de personas, y por otro lado, se han relacionado infecciones en humanos con el contacto con perros, aunque en ningún caso se han realizado estudios genéticos, para su tipificación. Más recientemente se han aplicado técnicas moleculares para tratar de clarificar posibles diferencias entre cepas e incluso determinar la existencia de subespecies (Ramachandran *et al.*, 1997; Schär *et al.*, 2014).

Aunque Faust & Kagy en 1933, habían demostrado que *S. stercoralis* puede adaptarse de los hospedadores humanos a los perros, cambiando su virulencia y las vías de migración, no se sabe si este fenómeno ocurre a la inversa. Si esto fuera cierto, entonces las infecciones en estos animales podrían representar un riesgo significativo para la salud de las personas (Thamsborg *et al.*, 2017).

La prevalencia de *Strongyloides stercoralis* varía de 0 a 50% en perros, aunque en la mayoría de los estudios es inferior al 5%, siendo los cachorros los más susceptibles de infectarse (Gates & Nolan, 2009; Paul *et al.*, 2010; Riggio *et al.*, 2013).

La prevalencia de la infección se ve influenciada por el medio ambiente, la edad y el tipo de alojamiento del animal. Posiblemente dicha prevalencia esté subestimada, ya que los métodos de flotación standard tienen una baja sensibilidad para recuperar las larvas L1 (Zajac & Saleh, 2013).

En cuanto al tratamiento en humanos, la primera elección consiste en la administración de 200 µg/kg de ivermectina durante 1 a 2 días y la alternativa es la administración de 400 mg de albendazol cada 12h durante 7 días (CDC, 2015).

### ***Trichuris vulpis***

Reino Animalia. Linnaeus, 1758

Phylum Nematoda. Rudolphi, 1808

Clase Adenophorea

Orden Trichocephalida

Superfamilia Trichuroidea

Familia Trichuridae

Género *Trichuris*. Röderer, 1761

Especie *Trichuris vulpis*. Froelich, 1789

*Trichuris vulpis* es un nematodo que se localiza en el intestino grueso de perros y cánidos silvestres, cuya transmisión es fecal-oral. Su prevalencia en perros varía en función de los países y del tipo de canes. En perros de albergue se observan grandes variaciones según los países. Mientras que en Gran Bretaña la tasa de infección oscila entre el 2,6-3%; en Grecia, Argentina, USA, Bélgica o Francia está entre el 10-30%. Sorprendentemente, se ha observado que en perros domésticos la prevalencia puede llegar a ser del 60%. En los últimos años ha adquirido gran importancia por su posible potencial zoonótico, ya que se han reportado casos de larva migratoria visceral e infecciones intestinales por *T. vulpis* en humanos (Kagei *et al.*, 1986; Traversa, 2011).



### 5.3. PROTOZOOS

#### ***Giardia intestinalis***

Reino Protozoa. Cavallier-Smith, 1998

Infrarreino Excavata. Cavallier-Smith, 2002

Phylum Metamonada. Grassé, 1952

Clase Eopharyngea. Cavallier-Smith, 1993

Orden Diplomonanida. Wenyon, 1926

Familia Hexamitidae, Kent 1881

Género *Giardia*. Kunstler, 1882

Especie *Giardia intestinalis*. Kunstler, 1882

*Giardia intestinalis* es un protozoo flagelado parásito que se localiza en el intestino delgado de diversos mamíferos, incluido el hombre. Es el agente etiológico de la giardiosis, una infección cuyo espectro varía de un estado de portador asintomático a la diarrea severa y la malabsorción. La giardiosis aguda se desarrolla después de un período de incubación que por lo general dura de 1 a 3 semanas. Los síntomas incluyen diarrea, dolor abdominal, distensión abdominal, náuseas y vómitos. En la giardiosis crónica, los síntomas son recurrentes y pueden incluir problemas de absorción y debilitamiento (Adam, 2001). Este protozoo puede estar presente en el hospedador en dos estadios de desarrollo, quistes y trofozoítos. Los quistes son las formas de resistencia del parásito y son responsables de la transmisión de la enfermedad. Tanto los quistes como los trofozoítos se pueden encontrar en las heces. Los quistes son resistentes y pueden sobrevivir varios meses en condiciones de humedad y temperatura adecuadas. El ciclo biológico (Fig. 6) comienza con la ingestión de quistes con agua o alimentos contaminados, o por contacto directo con personas o animales infectados. En el intestino delgado se produce la exquistación y transformación a trofozoítos. Los trofozoítos se multiplican por fisión binaria longitudinal, parasitando el lumen del intestino delgado proximal, donde pueden permanecer libres o unidos a la mucosa por

el disco succionario ventral. La enquistación se produce durante el tránsito hacia el colon. Como los quistes son infectantes cuando son excretados en las heces, o poco después, la transmisión de persona a persona es frecuente. Por otro lado, aunque los animales están infectados con *Giardia*, sólo determinados *assemblages* o genovariedades del parásito tienen relevancia zoonótica. En relación al tratamiento, los fármacos más utilizados son el metronidazol y el tinidazol. Además, parece que la nitazoxanida ha ofrecido resultados alentadores en niños (CDC, 2013).

*Giardia* es capaz de infectar numerosas especies de vertebrados incluyendo mamíferos, peces, anfibios y aves. En relación a la taxonomía, desde principios del siglo XX, se fueron describiendo especies en función del hospedador donde se iban encontrando. En los años 50' se definieron tres especies, que agrupaban diferentes grupos descritos previamente, en función de la morfología de los cuerpos medios y del tamaño de los trofozoitos, y que se denominaron *G. duodenalis*, *G. muris* y *G. agilis* (Erlandsen *et al.*, 1987). A esta clasificación, ampliamente aceptada en la taxonomía actual, se han incorporado tres nuevas especies que presentan diferencias morfológicas y de hospedador con respecto a las anteriores, *G. psittaci*, *G. ardeae* y *G. microti* (Tabla 4) (Thompson & Monis, 2011). Además, es probable que también esté presente una nueva especie en los reptiles, similar a *G. intestinalis* (Upton & Zien, 1997).

**Tabla 4. Especies de *Giardia* establecidas.** (Adaptada de Feng & Xiao, 2011)

Especies	Hospedadores principales
<i>G. agilis</i>	Anfibios
<i>G. ardeae</i>	Aves
<i>G. microti</i>	Ratas almizcleras y ratones de campo
<i>G. muris</i>	Roedores
<i>G. psittaci</i>	Aves
<i>G. varani</i> <sup>a</sup>	Lagartos
<i>G. intestinalis</i>	Mamíferos

<sup>a</sup>Necesita ser respaldado mediante caracterización molecular

Los nombres *Giardia duodenalis*, *Giardia intestinalis* y *Giardia lamblia* se utilizan indistintamente en la literatura actual para hacer referencia al mismo organismo (Xiao & Fayer, 2008), aunque algunos autores consideran que solo el primero es válido según las normas de nomenclatura (Thompson & Monis, 2011).

*G. intestinalis* es la única especie de *Giardia* infectiva para el hombre, aunque también infecta a otros mamíferos. En los últimos 30 años como consecuencia de los avances en las técnicas de biología molecular, se fueron describiendo grandes diferencias genéticas entre los aislados de *G. intestinalis* (Nash & Keister, 1985; Monis *et al.*, 1998; Monis *et al.*, 1999) y se fueron utilizando diferentes nomenclaturas para estas variantes génicas. Actualmente *G. intestinalis* se considera como un complejo de especies crípticas (Thomson *et al.*, 2008). Y recientes estudios moleculares y filogenéticos han permitido la identificación de ocho (A-H) variedades genotípicas (*assemblages*) que difieren en cuanto a su especificidad y rango de hospedadores susceptibles (Tabla 5) (Xiao & Fayer, 2008; Ryan & Cacciò, 2013; Heyworth, 2016).

Por ello en los últimos años diversos autores han propuesto el reconocimiento de rango de especie para estos *assemblages* (Tabla 5) (Monis *et al.*, 2003; Thompson & Monis, 2004; Feng & Xiao, 2011; Xu *et al.*, 2012; Ryan & Cacciò, 2013).

**Tabla 5. Variedades genotípicas o *assemblages* de *G. intestinalis* establecidas.** (Adaptada de Feng & Xiao, 2011)

Variedades genotípicas ( <i>assemblages</i> )	Nombre de especie propuesta	Hospedadores principales
<b>Ass. A</b>	<i>G. intestinalis</i> s.s. <sup>b</sup>	Seres humanos, primates, rumiantes, alpacas, cerdos, caballos, cánidos salvajes y domésticos, gatos, roedores, hurones, marsupiales, otros.
<b>Ass. B</b>	<i>G. entérica</i> <sup>b</sup>	Seres humanos, primates, ganado, perros, caballos, conejos, castores, otros.
<b>Ass. C</b>	<i>G. canis</i> <sup>b</sup>	Cánidos salvajes y domésticos
<b>Ass. D</b>	<i>G. canis</i> <sup>b</sup>	Cánidos salvajes y domésticos
<b>Ass. E</b>	<i>G. bovis</i> <sup>b</sup>	Rumiantes domésticos, cerdos
<b>Ass. F</b>	<i>G. cati</i> <sup>b</sup>	Gatos
<b>Ass. G</b>	<i>G. simondi</i> <sup>b</sup>	Ratones, ratas
<b>Ass. H</b>		Focas

<sup>b</sup> Especies cuyos nombres han sido propuestos recientemente (Thomson & Monis, 2004; Thomson *et al.* 2008; Monis *et al.*, 2009)

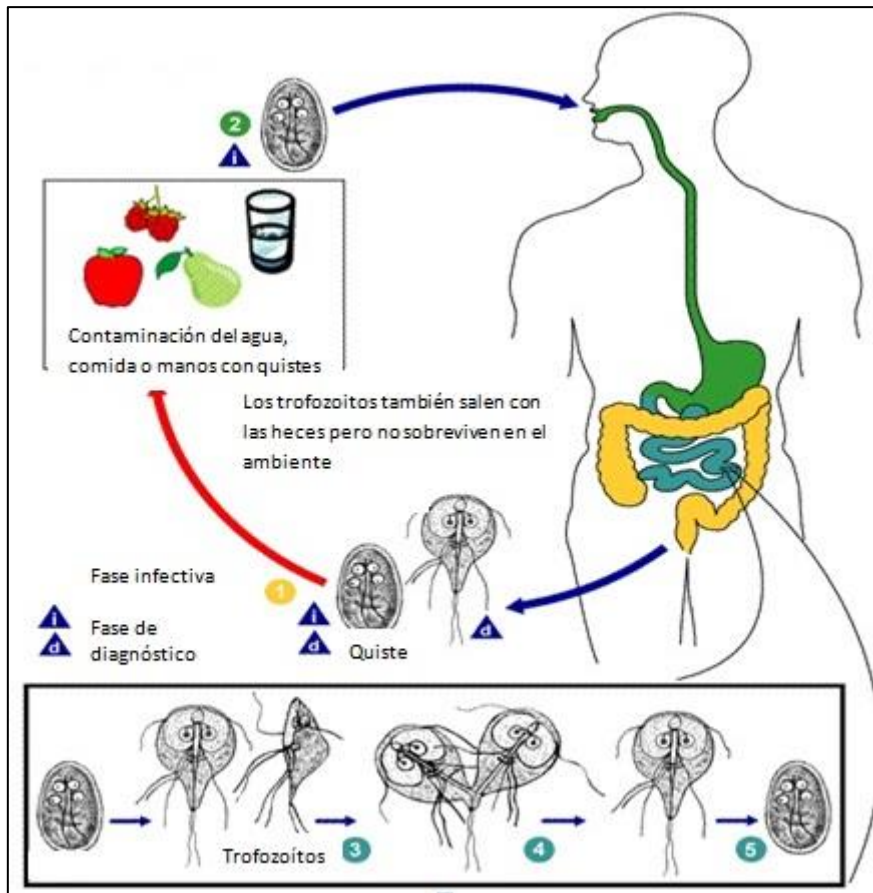
Las genovariedades A y B son las que muestran menor especificidad de hospedador, y han sido descritas en humanos y otros mamíferos como perros, gatos, ganado ovino, vacuno, porcino y fauna silvestre y son consideradas como zoonóticas,

sin embargo, según los estudios realizados al respecto, todavía no se ha confirmado la transmisión zoonótica en España (de Lucio *et al.*, 2017) a pesar de que sí se ha detectado la presencia de los *assemblages* zoonóticos tanto en seres humanos como en animales domésticos como perros y gatos (Gil *et al.*, 2017). Las genovariedades C y D, altamente adaptadas a infectar cánidos, son las más frecuentemente identificadas en perros domésticos (Monis *et al.*, 2009), aunque también pueden ser causa ocasional de infecciones humanas en individuos inmunodeprimidos.

Históricamente, los análisis aloenzimáticos colocaron todos los aislados de origen humano en dos conjuntos genéticos (los *assemblages* A y B) que abarcan, al menos, cuatro grupos genéticos (I a IV) (Monis & Thompson, 2003). Análisis filogenéticos posteriores, incluyendo gran número de secuencias de nucleótidos de la subunidad ribosomal pequeña de ARN (*ssu rRNA*) y otros marcadores como los genes que codifican para la glutamato deshidrogenasa (*GDH*), la  $\beta$ -giardina (*BG*), el factor de elongación 1 alfa (*EF1- $\alpha$* ), y la triosafosfato isomerasa (*TPI*), confirmaron la singularidad genética de los *assemblages* A y B.

Por otro lado, diversos estudios de relaciones filogenéticas han revelado que los *assemblages* A y B no están relacionados, sino que se parecen más a otros *assemblages* que entre sí. Así, mediante análisis de alozimas se ha determinado una mayor similitud del *assemblage* A con los E y F, que con el *assemblage* B (Monis *et al.*, 2003). Esto se ha confirmado con el análisis filogenético de secuencias de ADN, que forma dos grupos, uno con los *assemblages* A, E, F, y otro con los *assemblages* B, C y D (Lasek-Nesselquist *et al.*, 2010; Feng & Xiao, 2011; Fernández-Álvarez *et al.*, 2014).

*Giardia intestinalis* es uno de los parásitos entéricos más comunes del perro en el mundo. Un reciente estudio realizado en Australia encontró que un 9,3% de 1400 muestras de heces eran positivas para *Giardia*. Un estudio similar en EE.UU., pero basado en la detección de coproantígenos, determinó una prevalencia del 15,6% sobre 16.114 perros analizados. En Europa, la prevalencia varía entre 0,3-36% en adultos y hasta en un 70% en los cachorros (Bowman *et al.*, 2010).



**Figura 6.** Ciclo biológico de *Giardia intestinalis*. Adaptada de <https://www.cdc.gov/dpdx/giardiasis/index.html>

***Cryptosporidium* spp.**

Reino Protozoa. Cavalier-Smith, 1998

Filo Miozoa. Cavalier –Smith, 1987

Clase Gregarinomorpha. Grassé, 1953

Orden Cryptogregarida. Cavalier-Smith, 2014

Familia Cryptosporidiidae. Léger, 1911

Género *Cryptosporidium*. Tyzzer, 1907

Especie *Cryptosporidium* spp.

Los parásitos del género *Cryptosporidium*, que abarca al menos 30 especies reconocidas (Ryan *et al.*, 2014), son protozoos eucariotas intracelulares pertenecientes

al subfilo Apicomplexa y a la clase Gregarina (Carreno *et al.*, 1999; Cavalier-Smith & Chao, 2003; Cavalier-Smith, 2004). Al menos 150 especies de mamíferos (incluyendo el ser humano), aves, peces, reptiles y anfibios, son hospedadores de estos protozoos (Fayer, 2009). Las características morfológicas de los ooquistes de las distintas especies y genotipos son microscópicamente indistinguibles unas de otras, por lo que se hace necesario el estudio de otras características para una correcta identificación y diferenciación de las mismas. De hecho, la designación de nuevas especies debe basarse en datos que sustenten cuatro criterios: a) características morfométricas de los ooquistes, b) caracterización genética, c) especificidad natural (*in vivo*) del hospedador y en lo posible, la experimental (*in vitro*), d) conformidad con el Comité Internacional de Nomenclatura Zoológica (International Commission on Zoological Nomenclature–ICZN) (Xiao *et al.*, 2004; Xiao & Ryan, 2008).

La complejidad taxonómica del género *Cryptosporidium* ha sido evidente desde su descubrimiento hasta la fecha actual. En el año 1998, los datos obtenidos de estudios epidemiológicos (Xiao *et al.*, 2004; Caccio, 2005) mostraban la presencia de dos genotipos claramente diferenciados dentro de la especie *C. parvum*, el genotipo humano (H o I) detectado exclusivamente en humanos y el genotipo bovino (C o II) detectado tanto en humanos como en animales (bovinos o rumiantes), postulándose así la existencia de dos ciclos de transmisión independientes, uno antroponótico y otro zoonótico que involucraría tanto al hombre como animales (Peng *et al.*, 1997; Spano *et al.*, 1998). Un año más tarde, en 1999, los estudios indicaban la posibilidad de que estos dos genotipos de *C. parvum* realmente se correspondieran a dos especies distintas del parásito (McLauchlin *et al.*, 1999). No fue sino hasta el año 2002 que el genotipo humano, o antroponótico, de *C. parvum*, fue reclasificado como una nueva especie, denominándose *C. hominis*, en base a las diferencias morfológicas, biológicas y moleculares detectadas en relación al genotipo bovino de *C. parvum* (Morgan *et al.*, 2002). Hoy en día se reconoce que *C. hominis* y *C. parvum* son las principales especies causantes de la criptosporidiosis humana.

*Cryptosporidium* spp. presenta una localización intestinal y es responsable de diarreas tanto en humanos como animales. El 90% de las infecciones humanas por este parásito, se deben a *C. hominis* y *C. parvum*, mientras que el 10% restante, están

causadas por otras especies como *C. canis*, *C. felis*, *C. meleagridis* (Leoni *et al.*, 2006) y, en algunos casos, por *C. muris* (Katsumata *et al.*, 2000) y *C. suis* (Xiao *et al.*, 2002). La principal especie con potencial zoonótico es *C. parvum*, aunque otras especies como *C. meleagridis*, *C. ubiquitum* o *C. cuniculus* también pueden ser transmitidas entre reservorios animales y humanos (Xiao & Fayer, 2008). Los perros están casi exclusivamente infectados por *C. canis* (Huber *et al.*, 2007; Morgan *et al.*, 2000). No se conoce con exactitud cuál es la prevalencia de criptosporidiosis en los animales domésticos, pero se podría considerar que varía entre el 0% a 44,8% en los perros, según diferentes estudios, en función del tipo de animales muestreados y la endemicidad del área geográfica estudiada (Bowman & Lucio-Forster, 2010).

En los individuos inmunocomprometidos, aparecen con mayor prevalencia especies de *Cryptosporidium* atípicas, como *C. felis* y *C. canis* en comparación con la población general y, de ahí, la importancia de estas últimas por su posible papel de parásitos oportunistas (Xiao & Feng, 2008).

Los ooquistes esporulados, que contienen 4 esporozoítos, son excretados por el hospedador infectado a través de las heces y, posiblemente, otras rutas tales como las secreciones respiratorias. La transmisión de *Cryptosporidium parvum* y *C. hominis* se produce principalmente a través del contacto con agua contaminada. Brotes de transmisión hídrica son frecuentemente documentados en parques acuáticos, piscinas comunitarias y centros de día. Después de la ingestión (y posiblemente también por inhalación) por un hospedador susceptible, se produce la exquistación de los ooquistes. Los esporozoítos son liberados y parasitan células epiteliales del tracto gastrointestinal o de otros tejidos como el tracto respiratorio. En estas células, los parásitos se someten primero a una fase de multiplicación asexual (esquizogonia o merogonia) y luego, a la multiplicación sexual (gametogonia) en la que se generan microgamontes masculinos y macrogamontes femeninos. Los ooquistes son infectantes en el momento de la excreción de las heces, lo que permite la transmisión fecal-oral directa e inmediata.

La infección por *Cryptosporidium* spp. presenta una amplia gama de manifestaciones clínicas, desde infecciones asintomáticas hasta diarrea crónica que puede ser potencialmente mortal. El periodo de incubación de la enfermedad

(criptosporidiosis) dura un promedio de 7 días, pero puede variar de 2 a 10 días. La diarrea acuosa es el síntoma más frecuente y puede ir acompañada de deshidratación, pérdida de peso, dolor abdominal, fiebre, náuseas y vómitos. En personas inmunocompetentes, los síntomas suelen ser de corta duración (de 1 a 2 semanas) y remiten espontáneamente, pero pueden ser crónicos y más graves en pacientes inmunocomprometidos, especialmente aquellos con valores de  $CD4^+ < 200/\mu l$ . Actualmente no hay ningún medicamento efectivo contra la criptosporidiosis, por lo que el tratamiento es paliativo dirigiéndose a minimizar la pérdida de fluidos causada por la diarrea mediante el aporte de líquidos y electrolitos de manera inmediata. En pacientes con VIH, la rehidratación y la propia quimioterapia con antirretrovirales es la única alternativa (Kaplan *et al.*, 2002), consiguiéndose mejores resultados con la nitazoxanida.

### ***Sarcocystis* spp. y *Neospora canis***

Reino Protozoa. Cavalier-Smith, 1998

Filo Miozoa. Cavalier –Smith, 1987

Clase Coccidiomorpha. Doflein, 1901

Orden Eimeriida. Léger, 1911

Familia Sarcocystidae. Poche, 1913

Género *Sarcocystis*. Lankester, 1882

Especie *Sarcocystis* spp.

Género *Neospora*. Dubey *et al.*, 1988

Especie *Neospora canis*. Dubey *et al.*, 1988

Existen numerosas especies de *Sarcocystis*, tantas como combinaciones de hospedadores depredador-presa. Existen al menos 10 especies de *Sarcocystis* que se encuentran en las heces de los gatos y 21 especies en las heces de los perros (Dubey *et al.*, 1989) y posiblemente se encuentren más en el futuro (Dubey & Odening, 2001). Por otro lado, es imposible distinguir las especies de *Sarcocystis* basándose en la morfología de los ooquistes (Dubey *et al.*, 1989).



En el ciclo de *Sarcocystis* hay dos hospedadores obligados, generalmente los herbívoros actúan como hospedador intermediario y los carnívoros como definitivos. El hospedador intermediario se infecta por la ingestión de ooquistes esporulados excretados por las heces de los hospedadores definitivos. El parásito se multiplica asexualmente en el hospedador intermediario, formándose quistes tisulares que contienen las formas infectantes. Tras la ingestión de estos tejidos por el hospedador definitivo, se produce el ciclo intestinal con la consiguiente excreción de los ooquistes esporulados en heces (Dubey *et al.*, 1989).

Los perros pueden actuar como hospedadores definitivos y en ocasiones como hospedadores intermediarios en algunas especies. En la tabla 6 se recogen las especies más frecuentes en los que está implicados perros y gatos como hospedadores definitivos.

**Tabla 6. Especies de *Sarcocystis* más frecuentes transmitidas por perros y gatos.**

Adaptado de Merck Veterinary Manual

(<http://www.msddvetmanual.com/musculoskeletal-system/sarcocystosis/overview-of-sarcocystosis>)

Especie (sinónimos)	Hospedador intermediario	Hospedador definitivo
<i>S. bovifelis</i> ( <i>S. hirsuta</i> )	Bovino	Gato
<i>S. bovicanis</i> ( <i>S. cruzi</i> )	Bovino	Perro (lobo, zorro)
<i>S. ovifelis</i> ( <i>S. gigantea</i> )	Ovino	Gato
<i>S. ovicanis</i> ( <i>S. tenella</i> )	Ovino	Perro
<i>S. porcifelis</i>	Porcino	Gato
<i>S. suicanis</i> ( <i>S. miescheriana</i> )	Porcino	Perro
<i>S. porcifelis</i>	Porcino	Gato
<i>S. equicanis</i> ( <i>S. bertrami</i> )	Equino	Perro
<i>S. fayeri</i>	Equino	Perro
<i>S. capracanis</i>	Ovino, caprino	Perro
<i>S. hircicanis</i>	Ovino, caprino	Perro
<i>S. moulei</i>	Caprino	Gato
<i>S. aucheniae</i>	Llama	Perro

En general, las especies de *Sarcocystis* transmitidas por canidos son más patógenas para los hospedadores intermediarios que los transmitidos por otros hospedadores definitivos y suponen grandes pérdidas económicas en ganadería ya que afectan a la producción de carne, lana y leche de ovejas, vacas, cabras, cerdos, etc. (O'Donoghue & Rommel, 1992)

*S.canis* y *S.neurona* presentan un ciclo biológico inusual (Dubey *et al.*, 2006a; Dubey *et al.* 2014). *S.canis* es responsable de encefalitis, hepatitis y miositis en perros y *S.neurona* se ha asociado con miositis en perros y de graves patologías en los hospedadores intermediarios, como la mieloencefalitis equina (Dubey *et al.*, 2015).

Por otro lado, se han encontrado perros con manifestaciones clínicas, especialmente a nivel muscular, aunque no se ha caracterizado la especie de *Sarcocystis* implicada (Chapman *et al.* 2005; Dubey *et al.*, 2015).

Sólo dos especies infectan a los seres humanos como hospedadores definitivos, *S. hominis* (cuyo hospedador intermediario es el ganado vacuno) y *S. suihominis* (el porcino) (Fayer *et al.*, 2004) y más recientemente se ha descrito como intermediario en *Sarcocystis nesbitti* (Abubakar *et al.*, 2012), pero podrían ser hospedadores, definitivos o intermediarios de otras especies aún no definidas (Fayer *et al.*, 2015). No hemos encontrados datos de infecciones en humanos por las especies caninas.

En cuanto al género *Neospora* se describió por primera vez en 1988, incluyéndose una única especie en ese momento, *Neospora caninum* (Dubey *et al.*, 1988a; Dubey *et al.*, 1996a). Ese mismo año se obtuvo el primer aislado del parásito a partir de muestras de origen canino (Dubey *et al.*, 1988b). En la actualidad, los únicos hospedadores definitivos conocidos de *N. caninum* son el perro (McAllister *et al.*, 1998) y el coyote (Gondim *et al.*, 2004), que además pueden actuar como hospedadores intermediarios.

La infección natural por *N. caninum* se ha descrito, además de en el perro y en el ganado bovino, en la cabra (Barr *et al.*, 1992; Dubey *et al.*, 1996b), la oveja (Dubey & Lindsay, 2006b) o el caballo (Lindsay *et al.*, 1996). Su importancia veterinaria radica en que es el responsable de abortos en ganado, suponiendo graves pérdidas económicas.

Aunque no se considera un parásito potencialmente zoonótico se han detectado anticuerpos anti-*Neospora* en pacientes inmunosuprimidos por VIH (Oshiro *et al.*, 2015)

***Blastocystis hominis***

Reino Chromista Caval, 1981

Subreino Chromobiota Caval, 1991

Infrarreino Heterokonta Caval, 1995

Superphylum Heterokonta Caval, 1981

Phylum Bigyra Cavalier-Smith, 1998

Subphylum Opalinata Earl, 1971

Clase Blastocystea Zierdt, 1978

Género *Blastocystis*. Aléxéieff, 1911

Especie *Blastocystis hominis*. Brumpt, 1912

La clasificación taxonómica de *Blastocystis hominis* está envuelta en polémica. Este organismo ha sido considerado previamente como levadura, hongo o protozoo. Recientemente, sin embargo, estudios epidemiológicos moleculares, especialmente los destinados a la secuenciación del gen completo *ssu rRNA*, han permitido clasificar a *B. hominis* dentro de un nuevo grupo taxonómico, los stramenopiles (Silberman *et al.* 1996). Filogenéticamente, los stramenopiles se definen como un conjunto de protistas unicelulares y multicelulares evolutivamente heterogéneo, que incluye las algas pardas, diatomeas, crisofitas, etc. (Patterson, 1994). El especialista en biología evolutiva, Cavalier-Smith considera, por otra parte, que los stramenopiles son idénticos a su infrarreino Heterokonta dentro del reino Chromista. Por lo tanto, de acuerdo con este autor, en quien se apoya esta clasificación, *B. hominis* es un Chromista heterokóntido (Cavalier-Smith, 1998).

El ciclo biológico y la transmisión de *B. hominis* son aún objeto de investigación. En general es un ciclo biológico directo de transmisión fecal-oral a través de la ingestión de agua o alimentos contaminados. En las heces se eliminan las formas quísticas, que varían enormemente en tamaño, de 6 a 40 micras. Los quistes infectan las células epiteliales del tracto digestivo y se multiplican asexualmente. Es un parásito zoonótico, capaz de infectar mamíferos y aves.

El desarrollo de la biología molecular ha permitido mejorar el conocimiento de *Blastocystis hominis*, actualmente se considera que solo existe una especie, que comprende al menos 17 linajes ribosomales diferentes, llamados también subtipos (ST), que posiblemente en un futuro sean consideradas como especies independientes. De ellas, de ST1-ST9 son las que se han descrito en humanos. En Europa ST1-ST4 son las que aparecen más frecuentemente tanto en humanos como en animales. Sin embargo, falta por esclarecer el papel zoonótico de cada uno de estos ST. En la tabla 7, se indican los ST encontrados con más frecuencia en diferentes animales (Andersen *et al.*, 2016).

**Tabla 7. Subtipos de *Blastocystis* encontrados en diferentes especies animales.** Modificado de Alfellani *et al.*, 2013 y de Coco *et al.*, 2016

ESPECIE ANIMAL	SUBTIPOS DETECTADOS
Vaca	ST1, ST3, ST5, ST10, ST14
Cabra	ST3, ST7, ST10
Oveja	ST10, ST15
Cerdo	ST2, ST5, ST14
Gallina	ST7
Roedor	ST2, ST3, ST4
Chinchilla	ST3
Topo	ST5
Jirafa	ST3
Ciervo	ST5, ST10, ST13
Camello	ST1, ST3, ST5, ST10, ST14, ST15
Rinoceronte	ST5
Ave	ST5
Marsupial	ST8
Perro*	ST2, ST1, ST 4, ST5, ST6
Primate	ST4
Primate no humano	S15
Marsupiales	S16
Roedores	S17

\*Se encuentran ST diferentes según el área geográfica

Existe un número reducido de estudios sobre *Blastocystis* en perros que analizan los subtipos y la presencia de síntomas. En estos animales se observa la aparición de manifestaciones gastrointestinales similares a las de los humanos. Sin embargo, no se han encontrado claras evidencias de que haya riesgo de transmisión del parásito desde el animal al dueño (Ruaux *et al.*, 2014).

La mayor o menor presencia de parásitos en los perros parece depender de las condiciones climáticas, siendo más frecuente en climas cálidos (Duda *et al.*, 1998).

Si *Blastocystis hominis* es causante (o no) de infección sintomática en los seres humanos es un punto de debate activo. Esto es debido a la presencia del organismo tanto en personas asintomáticas como en pacientes sintomáticos. Los que creen que los síntomas podrían estar relacionados con la infección por este parásito han descrito un conjunto de síntomas como diarrea acuosa, dolor abdominal, prurito perianal, y flatulencia excesiva.

*Blastocystis* presenta varias formas, avacuolar, vacuolar, granular, ameboide, quísticas, sin embargo no existe un claro consenso en cuanto a si existe relación entre los casos sintomáticos y la presencia de alguna de dichas formas o si simplemente son artefactos resultantes de stress oxidativo u otro tipo de stress (Stensvold & Clark, 2016).

Los tratamientos utilizados para eliminar esta infección son diferentes dosis de metronidazol, cotrimoxazol o nitazoxanida (CDC, 2013).

### ***Cystoisospora* spp.**

Reino Protozoa. Cavalier-Smith, 1998

Filo Miozoa. Cavalier –Smith, 1987

Clase Coccidiomorpha. Doflein, 1901

Orden Eimeriida. Léger, 1911

Familia Eimeriidae. Minchin, 1903

Género *Cystoisospora*. Schneider, 1881

Especie *Cystoisospora* spp.

Es un coccidio de transmisión fecal-oral. Los perros más jóvenes son los más susceptibles de padecer la infección, que puede alcanzar tasas de entre un 3 y un 38%. Además, los perros callejeros tienen más probabilidades de infectarse ya que suelen alimentarse de roedores que actúan como hospedadores paraténicos. Sin embargo, no se conoce realmente la importancia clínica de estos coccidios en el perro ya que existen pocos estudios al respecto, aunque los escasos estudios disponibles parecen asociarlos a cuadros diarreicos. Sin embargo, no se considera un parásito zoonótico.

Existen varias especies de *Cystoisospora* que afectan a los perros. *C. canis* se identifica fácilmente por su tamaño (35 µm x 30 µm). Sin embargo, el complejo *C.*

*ohioensis*, que incluye las especies *C. ohioensis*, *C. burrowsi* y *C. neorivolta*, son de menor tamaño y requieren de técnicas especiales de tinción para su visualización e identificación (Lindsay *et al.*, 1997).

## 6. PREVALENCIA DE PARÁSITOS INTESTINALES EN PERROS

### 6.1. Estudios realizados en el ámbito internacional

En la bibliografía se recogen numerosos artículos sobre la presencia de parásitos intestinales en perros en diferentes partes del mundo. Del mismo modo, otros estudios describen la existencia de formas parasitarias en el suelo como consecuencia de la contaminación ambiental por heces de estos animales.

En la tabla 8 se recogen algunos de los principales estudios realizados en países europeos. En los estudios realizados en Oporto y Flandes, detectaron un importante número de animales infectados, sin sintomatología clínica que estarían eliminando formas parasitarias y por tanto suponen un riesgo de transmisión de enfermedades zoonóticas, siendo los más prevalentes *Giardia* y *Toxocara* (Claerebout *et al.*, 2009; Neves *et al.*, 2014).

En Grecia, se han hecho diversos estudios sobre la prevalencia de *Echinococcus* en perros, debido a que es una zona de gran incidencia en hidatidosis. Así, se ha recogido que la prevalencia para este parásito es del 50,4% en perros pastores, 26,9% en perros guardianes, un 19,2% en perros de caza, un 9,3% en perros callejeros urbanos y menos del 1% en perros domésticos (Sotiraki *et al.*, 2003).

**Tabla 8. Estudios realizados en países europeos sobre parásitos intestinales caninos.**

<b>País / área /n</b>	<b>Prevalencia de parásitos intestinales* (%)</b>	<b>Especies halladas (frecuencia de aparición)</b>	<b>Referencia</b>
Portugal /Oporto /368	a) Perros asintomáticos (n= 175): 20,6 b) Perros sintomáticos (n= 193): 33,7	a) <i>Cystoisospora canis</i> (8%), <i>Giardia</i> sp. (7,4%), <i>Toxocara canis</i> (5,1%), <i>Trichuris vulpis</i> (1,1%) <i>Toxascaris leonina</i> (0,6%) b) <i>Giardia</i> spp. (15,5%), <i>C. canis</i> (13,5%), <i>T. canis</i> (7,8%), <i>T. vulpis</i> (2,6%), <i>T. leonina</i> (0,5%)	Neves <i>et al.</i> , 2014
Bélgica/ Flandes / 1159	a) Perros de criadero (n= 357): 89 b)Perros domésticos (n=451): 20.4 c)Perros sintomáticos (n=351): sd	a) <i>Giardia</i> (43,9%), <i>T. canis</i> (26,3%), <i>Cystoisospora</i> spp. (26,3%) b) <i>Giardia</i> (9,3%), <i>T. canis</i> (4,4%) c) <i>Giardia</i> (18.1%), <i>Cystoisospora</i> spp. (8.8%), <i>T.canis</i> (7.4%) <i>Giardia</i> ( <i>assemblages</i> C y D)	Clarebout <i>et al.</i> , 2009
Grecia / Tesalónica / sd	a)Perros pastores: 50.4 b)Perros guardianes: 26.9 c)Perros de caza: 19.2 d)Perros domésticos: <1 e)Perros callejeros urbanos: 9.3	<i>Echinococcus</i> sp. **	Sotiraki <i>et al.</i> , 2003
Alemania/8438	nd	<i>Ancylostomatidae</i> 8,6%; <i>Trichuris</i> 4%; <i>Toxocara</i> 22,4%; <i>Toxascaris</i> 1,8; <i>Dipylidium</i> 0,4; <i>Taeniidae</i> 1,2%; <i>Capillaria</i> 2,3%; <i>Giardia</i> spp. 16,6%	Barutzki & Schaper, 2003

Italia / Milán/409	a) Perros domésticos: 28,2-57,4	a) <i>T. canis</i> , <i>T. vulpis</i> , Ancylostomatidae, <i>G. intestinalis</i> (assemblages C y D)	Zanzani <i>et al.</i> , 2014
Sicilia/Italia/655	Domesticos+albergue	<i>Giardia</i> 26.3% (assemblages C, D, and A) a) Ancylostomatidae 44,59%, Trichuris34,46, Toxocara7,43, Toxascaris 0,68, <i>Dipylidium</i> 0,68, Taeniidae 0,34, <i>Isospora</i> spp 3,04	Pipia <i>et al.</i> , 2014
Portugal/ Ponte de Lima/592	a) Perros callejeros 59.80 b) Perros pastores 57.44 c) Perros caza: 81.19	b) Ancylostomatidae31,28, Trichuris32,82, Toxocara 11,28, Toxascaris 0, <i>Dipylidium</i> 1,02, Taeniidae 0,51, <i>Isospora</i> spp 1,54 c) Ancylostomatidae70,30, Trichuris49,50, Toxocara 11,28, Toxascaris 0, <i>Dipylidium</i> 0,99 , Taeniidae1,98, <i>Isospora</i> spp 4,95	Mateus <i>et al.</i> , 2014
Lyon/Francia/116	Domesticos+albergues	<i>Ancylostoma duodenale</i> 3,4%, <i>Trichuris</i> 1.7%, <i>Toxocara</i> 9.5%, Taeniidae 1.7%, <i>Isospora</i> spp 19,8; <i>Giardia</i> 25% <i>Cryptosporium</i> 2,6%, <i>Blastocystis</i> 3,4%	Osmana <i>et al.</i> , 2015
Turquía / Aydin / 473	a) perros de albergues: 18.8	a) <i>Giardia duodenalis</i> (assemblage B [100%] assemblage A[42%])**	Gultekin <i>et al.</i> , 2017

sd: sin datos.

\*Según procedencia, clínica o actividad del perro

\*\*El estudio se centró únicamente en este parásito.



En Japón, otro trabajo recoge los datos de prevalencia de helmintos intestinales en perros de la prefectura de Osaka. Allí se recogieron un total de 212 muestras fecales, con un resultado del 39,2% de positividad. La especie más común fue *Toxocara canis*, con un 25% de prevalencia, seguida de *Trichuris vulpis* (8%), *Spirometra erinaceieuropaei* (3,3%), familia Taeniidae (2,4%), *Ancylostoma caninum* (1,9%), y *Toxascaris leonina* (0,5%). Se hallaron diferencias significativas relacionadas con la edad en los perros portadores de *T. canis* de tal modo que su prevalencia en cachorros (individuos menores de 5 meses de vida) fue del 34,9%, mientras que la prevalencia en adultos (mayores de 5 meses de edad) fue del 8,8%. En contraposición, la prevalencia de *T. vulpis* en cachorros fue del 2,3%, mientras que en adultos fue del 17,5%. Por otro lado, las muestras positivas a huevos de la familia Taeniidae fueron sometidas a análisis moleculares, permitiendo la identificación de *Taenia hydatigena*, *T. pisiformis*, *T. serialis*, y *T. taeniformis*, pero no de *Echinococcus multilocularis*. Como conclusión, este estudio reveló una elevada tasa de infección comparable a la estimada en otros estudios recientes llevados a cabo en la parte oriental del país, aunque sensiblemente inferiores a la tasa del 80% reportada hace treinta años en Hyogo, una prefectura vecina a la de Osaka (Kimura *et al.*, 2013).

En un estudio en EE.UU en el que se recopilaban datos de más de un millón de animales, procedentes de más de 500 clínicas privadas de todo el país, encontraron una prevalencia de nematodos intestinales del 8,79%, siendo los más frecuentes, *Toxocara* (5,04%), *Ancylostoma* spp (4,5%) y *Trichuris* (0,81%) (Mohamed *et al.*, 2009).

En el sur de Buenos Aires, Argentina, se realizó un amplio estudio en perros con dueño, donde se analizaron 2193 muestras fecales. De ellas, el 52,4% presentaban al menos un parásito intestinal. Las prevalencias más elevadas correspondían a *Ancylostoma caninum* (13,4%), complejo *Isoospora ohioensis* (11,9%), *T. canis* (10,9%), *Trichuris vulpis* (10,1%), *Sarcocystis* sp. (9,8%) y *Giardia* (8,9%). Además, se encontraron en menor proporción *Cystoisospora canis* (3,5%), complejo *Hammondia–Neospora* (3%), *Dipilydium caninum* (18 casos), *Cryptosporidium* sp. (5 casos) y *Toxascaris leonina* (1 caso) (Fontanarrosa *et al.*, 2006).

Otro estudio realizado en este mismo país, concretamente en la provincia de Río Negro, Patagonia, se determinó la prevalencia de helmintos endoparásitos en heces caninas mediante técnicas directas (Sedimentación de Telemann y Flotación de Sheather) e indirectas (Copro-Elisa y CoproWestern Blot) en 5 barrios, entre 2011 y 2013. El porcentaje total de muestras positivas a helmintos fue de 37% en 2011 y de 67% en 2013. De entre las muestras positivas, el 50% presentaron una infección mono-específica en 2011 y el 61% en 2013. Se identificaron un total de 10 especies de helmintos, detectándose por análisis directos *Diphyllbothrium* sp., *Strongyloides* sp., *Uncinaria* sp., *Ancylostoma* sp., *Toxocara* sp., *Toxascaris* sp., *Capillaria* sp., y *Trichuris* sp. Mediante, análisis indirectos, se detectaron *Echinococcus granulosus* y *Taenia* sp. Los autores de este estudio concluyen que entender la ecología de las zoonosis es importante para reducir el riesgo de infecciones en el hombre, teniendo en cuenta, además, que los perros pueden servir adicionalmente como puente entre ciclos silvestres y domésticos. De hecho, los helmintos registrados en este estudio, son zoonóticos (como *Diphyllbothrium* sp., *Strongyloides* sp., *Ancylostoma* sp., *Toxocara* sp., *Capillaria* sp., y *Trichuris* sp., *E. granulosus* y *Taenia* sp.) o potencialmente zoonóticos (como *Uncinaria* sp. y *Toxascaris* sp.). Además, dichos autores (Semenas *et al.*, 2014) afirman que los hallazgos obtenidos son similares a registros previos del centro y norte de Argentina, así como de otras provincias. Se deja constancia también de la relevancia que tiene las condiciones ambientales sobre la supervivencia y viabilidad de los huevos/larvas de los parásitos investigados. Factores como la temperatura, la humedad, la radiación solar y el tipo de suelo, han demostrado tener una influencia notable en estos parámetros. Un ejemplo de la importancia de dichos factores es el caso de la toxocariosis, donde las condiciones de humedad de la zona de cordillera facilitarían la transmisión de la enfermedad, a diferencia de lo que ocurriría en zonas de la estepa Patagónica, sometidas a regímenes de sequía. Debe tenerse en cuenta que Argentina es uno de los países de Latinoamérica endémicos para muchas enfermedades zoonóticas. La verdadera situación epidemiológica de estas enfermedades es solo parcialmente conocida debido a que su distribución y prevalencia se ha analizado a nivel local y a menudo usando tamaños muestrales reducidos (Sánchez-Thevenet *et al.*, 2003).

En Durban, República de Sudáfrica, se realizó un estudio similar en un grupo de 240 perros rescatados por una asociación de prevención contra la crueldad animal. La prevalencia de parásitos intestinales encontrada fue del 82,5%, de la que el 93,1%, correspondía a helmintos y el 6,9% restante, a protozoos. Los parásitos hallados fueron *Ancylostoma* sp. (53,8%), *Trichuris vulpis* (7,9%), *Spirocerca lupi* (5,4%), *Toxocara canis* (7,9%), *Toxascaris leonina* (0,4%), *Giardia intestinalis* (5,6%) y *Cystoisospora* sp. (1,3%). Los perros que presentaban sólo una especie parasitaria eran mayoría (41,7%) respecto a los que estaban parasitados por dos (15%) o con infección múltiple (2,1%). *Ancylostoma* sp., *Toxocara canis* y *Giardia intestinalis*, especies consideradas como zoonóticas fueron detectadas en el 66,7% de las muestras. Que *Ancylostoma* sp. sea el parásito más frecuentemente encontrado (53,8%) en Sudáfrica no es extraño, como lo demuestran otros estudios como el de Mukaratirwa, *et al.*, 1995. Esto sugiere -según los autores- que las condiciones medioambientales en Durban son las apropiadas para la supervivencia, la progresión completa del ciclo de vida y la transmisión del parásito; sin embargo, no hay datos de infecciones en humanos. Es posible según el estudio que algunos parásitos hayan desarrollado resistencias a los antihelmínticos comunes ya que algunos perros utilizados en el estudio habían sido desparasitados con regularidad antes de ser recogidos por la sociedad protectora. La prevalencia observada de *T. canis* (7,9%) es comparable a la observada en Zimbabwe pero inferior a la hallada en otras partes de Sudáfrica. La disparidad observada en estos estudios puede estar relacionada con las diferencias de edad entre los perros estudiados. La prevalencia de *T. vulpis* (7,9%) de este estudio, entra dentro del amplio rango de valores que han sido publicados, sin embargo, no había sido nunca antes citado en Sudáfrica (Mukaratirwa & Singh, 2010).

En un trabajo llevado a cabo en Túnez en el año 1999, se examinaron mediante necropsia los intestinos de 198 perros de dos áreas del país (Bouزيد y Testour). El objetivo principal del estudio era demostrar la presencia del estadio adulto de *Echinococcus granulosus* en perros, en un intento de explicar la elevada tasa de hidatidosis humana (1,5%) y ganado en la zona. Se demostró una prevalencia del 21,2% de parasitismo en perros y una mayor tasa de parasitación en cachorros, algunos de los cuales llegaron a superar una carga parasitaria de más de 67.000 helmintos por individuo. Otras especies de helmintos halladas en este estudio fueron *Ancylostoma*

*caninum*, *Trichuris vulpis*, *Toxocara canis*, *Uncinaria stenocephala*, *Dipylidium caninum*, *Mesocestoides littoralis*, *Mesocestoides lineatus*, *Taenia hydatigena*, *Taenia serialis*, *Taenia multiceps* y *Taenia pisiformis* (Lahmar & Kilani, 2001).

En países en vías de desarrollo como Etiopía se han llevado a cabo diversos estudios en diferentes zonas del país. Así en Bahir Dar (en el norte del país) en un estudio realizado en perros con dueño y perros callejeros, se observó que la prevalencia total de parásitos era de un 75,3 y un 84,8%, respectivamente. Los parásitos más prevalentes en los perros con dueño fueron *Ancylostoma caninum* (78,9%), *Toxocara canis* (39,8%), *Dipylidium caninum* (29,8%), *Strongyloides stercoralis* (29,1%), taenidos (23,9%) y *Trichuris vulpis* (8%). En los perros callejeros fue muy frecuente el poliparasitismo, siendo los parásitos más frecuentes *A. caninum*, *T. canis*, *S. stercoralis*, *Trichuris vulpis* y los taenidos. Además, se encontró *Diphyllbothrium latum*, en un 10% de los perros callejeros (Abere *et al.*, 2013).

En otro estudio realizado en 2010 en la ciudad de Gondar, también en Etiopía, se examinaron un total de 326 muestras fecales. Se determinó una prevalencia total de un 14,7%, mucho más baja que en Bahir Dar, siendo *Ancylostoma caninum* (4,6%) el nematodo más prevalente seguido de *Strongyloides stercoralis* (4,29%), *Toxocara canis* (3,06%) y *Toxascaris leonina* (2,76%) (Awoke *et al.*, 2011). No se encontraron diferencias significativas entre la raza, el sexo y la edad de los animales investigados y la tasa de infección obtenidas.

En Egipto, se realizó una investigación en relación a los parásitos intestinales de interés zoonótico en perros domésticos (n=60) y en perros policía (n=120). La prevalencia global fue del 18,3% (Ahmed, *et al.*, 2014). En los perros policía se notificó una prevalencia de parásitos intestinales del 7,5%. Las especies parasitarias encontradas fueron, *Cystoisospora canis* (4,2%), *Giardia* spp. (1,7%), *Ancylostoma caninum* (1,7%), *T. canis* (0,8%) y *Trichuris vulpis* (0,8%). En cuanto a los perros domésticos, el 40% de ellos fue positivo a algún tipo de parásito intestinal, mediante técnicas de flotación y de sedimentación. Las especies parasitarias encontradas fueron *Giardia* spp. (31,7%), *Entamoeba histolytica* (18,3%), *T. canis* (5%), *C. canis* (3,3%), *Toxascaris leonina* (1,7%) y *Cryptosporidium* spp. (1,7%). Siendo los cachorros los que presentaban una tasa de

parasitación más elevada. Como conclusión, los autores afirman que, a pesar de las medidas higiénicas, la desparasitación regular con antihelmínticos y la alta calidad de la alimentación de los animales estudiados, queda constancia del hallazgo de un amplio número de parásitos diferentes en el estudio. Estos datos están en consonancia con las observaciones de Senlik *et al.*, 2006, que aclaran que aunque los cuidados y alimentación de los perros sean óptimos, los nematodos intestinales son recurrentes en estos hospedadores.

En otro trabajo realizado en Mashhad (noreste de Irán) en 2009 sobre una muestra de 100 canes de diferentes perreras de la ciudad mediante necropsia y examen del contenido intestinal, se observó que el 87% de ellos estaba parasitado y el 84% lo estaba con al menos un helminto. Cabe destacar que también se les tomó muestras de sangre y piel en búsqueda de ectoparásitos, *Toxoplasma* y *Leishmania*, entre otros. La prevalencia fue la siguiente, el 61% de los canes eran positivos a *Taenia hydatigena*, el 10% lo era a *Echinococcus granulosus*, y el 7% era positivo a *Toxocara canis*. Según los autores, no se encontraron diferencias significativas entre las tasas de parasitación halladas y variables como el sexo, edad, color del pelaje (claro y oscuro) de los animales o la época del año en la que se realizó el estudio. Sin embargo, sí que admiten que, en otros estudios realizados en ese mismo país, la prevalencia encontrada de *T. canis* fue mucho más elevada que en otros estudios (39%), considerando los autores que las diferencias podrían deberse a la edad de los animales (Adinezadeh *et al.*, 2013)

En otro estudio similar llevado a cabo en la provincia de Khorasan Razavi (Irán) el objetivo fue determinar la prevalencia de *Neospora caninum* y de otros parásitos intestinales en perros (Razmi, 2009). Para ello, se efectuó un estudio transversal en el que se recogieron 174 muestras fecales de origen canino en 89 granjas y 85 hogares, entre 2006 y 2007. La prevalencia de parásitos intestinales en las granjas fue de 29,2%, determinándose la presencia de siete especies parasitarias (*T.canis*, 17,9%; *Taenia* sp., 10,1%; *Strongyloides stercoralis*, 5,6%; *Hamondia-Neospora*, 4,4%; *Cystoisospora* sp., 7,8%; *Sarcocystis* sp., 7,8% y *Giardia* sp., 1,1%) y de 14,1% en los hogares, donde se encontraron 4 especies (*T. canis*, 4,4%, *Taenia* sp., 3,3%, *Cystoisospora* sp., 2,3% y *Sarcocystis* sp., 4,7%). Además, las muestras positivas para el complejo *Hamondia-Neospora*, fueron examinadas por PCR y dos muestras resultaron positivas para

*Neospora caninum*. Este resultado guarda relación con la razón por la que se seleccionaron las granjas que participaban en el estudio. Dichas granjas habían declarado pérdidas económicas por abortos puntuales en el ganado y además habían participado en estudios anteriores realizados en la región. Por último, los autores concluyen que la menor prevalencia general de parásitos intestinales detectada en comparación con la reportada en otros estudios realizados en Irán, era debida a que en estos últimos, las poblaciones analizadas eran de perros extraviados sobre los que no había medidas de control.

En un tercer estudio realizado también en Irán, concretamente en la ciudad de Garmsar (provincia de Semnan), se evaluaron los tractos digestivos de 50 perros abandonados mediante necropsia, para determinar infestaciones helmínticas. El resultado fue que el poliparasitismo era la norma, con 40 perros (80%) albergando más de una especie de helminto. *Taenia hydatigena* fue la especie más prevalente (80%), seguida de *Echinococcus granulosus* (64%), *T. canis* (22%), *Mesocestoides lineatus* (12%), *T. multiceps* (10%) y *Dipylidium caninum* (4%). Se encontraron diferencias significativas entre la presencia de *T. canis* y la edad de los animales investigados. *T. hydatigena* era además más frecuente en machos (Eslami *et al.*, 2010).

En la India, donde existen cerca de 30 millones de perros, con una relación perro/hombre de 1:35 (Varshney & Sharma, 2003), se han recogido muchos datos de prevalencia de parásitos intestinales en los perros. Por ejemplo, en 2011, en la ciudad de Jabalpur –en el centro del país- y zonas colindantes, se realizó un trabajo a partir de 108 muestras de heces de perros callejeros. La recogida se llevó a cabo en cunetas de carreteras, lugares de recreo de niños, parques y plazas públicas y áreas residenciales de diferentes localidades. La prevalencia global encontrada fue del 79,6%, siendo *Ancylostoma caninum*, el parásito más frecuentemente encontrado, con un rango de positividad del 64,8%, seguido por *T. canis* (16,7%), *Taenia* sp. (1,9%) y *Cystoisospora* sp. (1,9%). Se determinó la presencia de un alto grado de infecciones mixtas por *T. canis* y *A. caninum* y también por *A. caninum* y *Cystoisospora* sp. (Nath *et al.*, 2011). Según describen los autores, los hábitos defecatorios indiscriminados de los perros aseguran la contaminación ambiental y perpetúan el riesgo de infección parasitaria de otros perros y hospedadores, incluyendo al ser humano. El incremento de la población de

perros callejeros junto con la escasez o ausencia de medidas de control eficaces hace que esta situación conlleve un grave problema de salud pública particularmente en áreas desfavorecidas con altos índices de pobreza y escasez de instalaciones sanitarias.

En un estudio realizado en Costa Rica, se analizaron 191 muestras fecales recogidas de la arena de 18 playas. En el 60,2% de las muestras se encontraron parásitos intestinales. La prevalencia de cada parásito fue: ancilostómidos (49,7%), *T. vulpis* (15,2%), *D. caninum* (7,3%), *T. canis* (3,7%) y coccidios (3,7%). Respecto a los parásitos con potencial riesgo zoonótico, los ancilostómidos fueron detectados en 15 playas (93,8%), mientras que *T. canis* lo fue en 4 playas (25,0%) (Castro *et al.*, 2009).

En otro estudio similar realizado en el área metropolitana de este mismo país, se estudiaron 146 muestras de heces de perros de área urbana. Se les practicó un examen directo y luego tinciones especiales como la de Weber, para la detección de microsporidios, de Koster para *Cryptosporidium* y Ziehl Nielsen para *Cyclospora*. El hallazgo de estos tres parásitos era el objetivo principal del estudio. El grupo parasitario más prevalente fue el de los microsporidios, hallados en el 20% de las muestras analizadas. Además, los porcentajes de *Cryptosporidium* y de *Cyclospora* fueron del 3,7% y del 3%, respectivamente. Por otro lado, los porcentajes de infección por nematodos y protozoos fue muy bajo (14% y 5,1%, respectivamente), debido, probablemente, al origen urbano de los perros estudiados. Los autores enfatizaron el papel que probablemente juega la alimentación de los canes en la obtención de un mayor número de positivos. A pesar de que los perros fueron alimentados con productos concentrados procesados, es también posible que fueran suplementados con comida casera contaminada. La presencia de microsporidios en un 20% de los animales, siendo una prevalencia muy elevada en relación a la indicada en otros países, de aproximadamente el 2% (Valerio *et al.*, 2010).

## 6.2. Estudios realizados en el ámbito nacional

En España existen muy pocos estudios sobre los parásitos en heces de perros, y en general se refieren a ciudades concretas.

En un estudio realizado en Granada en 1996 en perros recogidos en perreras municipales, encontraron mediante microscopía, una prevalencia de *Giardia* spp. del 12,1% (Díaz *et al.*, 1996).

En otro estudio llevado a cabo en la ciudad de Zaragoza en 1996, se compararon muestras fecales de perros domésticos y callejeros para determinar la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* mediante tinción de Ziehl-Neelsen modificada. No se observó una diferencia significativa entre ambos grupos de animales, siendo las tasas de infección del 8,1% en los animales domésticos y un 6,8% en los callejeros (Causapé *et al.*, 1996).

En Córdoba, en un estudio basado en examen coproparasitario y necropsia sobre 1800 animales, se determinó que un 71,3% estaban infectados. La presencia de protozoos fue observada en el 31,8% de las muestras. En cuanto a los cestodos se observaron *D. caninum* y huevos de especies de la familia Taeniidae en un 15,8% de los animales. Sin embargo, los nematodos (*Uncinaria stenocephala*, *Toxocara canis* y *Toxascaris leonina*) eran los parásitos más frecuentes, con una prevalencia del 53,3% (Martínez-Moreno *et al.*, 2007).

En un estudio similar realizado en Murcia sobre 275 perros domésticos, de albergue y callejeros, se detectó una prevalencia de parásitos intestinales del 25%. Las especies más frecuentes fueron *T. canis*, ancilostómidos, *T. leonina* y *C. canis*, y los menos frecuentes *T. vulpis*, *G. intestinalis* y *D. caninum*. Además, los autores determinaron que el mayor riesgo de parasitismo intestinal correspondía a los perros de menos de un 1 año y que procedían de albergues. Finalmente, el estudio mediante necropsia reveló que el 12% de los animales presentaban infecciones por *Taenia* spp. (Martínez-Carrasco *et al.*, 2007).

Recientemente se han llevado a cabo varios estudios epidemiológicos y moleculares en poblaciones caninas en Madrid. En el primero de ellos, basado en



técnicas coprológicas, se analizaron 1161 muestras de heces de perros de albergues, determinándose un 28% de prevalencia de diferentes parásitos intestinales, incluyendo *Giardia intestinalis* (7%), *Cystoisospora* spp. (3,8%), *Toxocara canis* (7,8%), *Toxascaris leonina* (6,3%), ancilostómidos (4%), *Trichuris vulpis* (3,3%), taenidos (2,9%) y *Dipylidium caninum* (0,9%). Además, se evaluó la eficacia de fenbendazol y una combinación de febantel–pirantel–praziquantel como antiparasitarios en relación al fármaco convencional, el mebendazol (Miró *et al.*, 2007).

En un segundo estudio realizado por el mismo grupo también en Madrid, se determinó la prevalencia de *G. intestinalis* en diversas poblaciones caninas y felinas. La prevalencia en perros fue de 16,4 % y de un 4,2 % en gatos. Además, se analizaron las genovariades mediante PCR-RFLP. En gatos se observó una mezcla de genovariades A + F. Mientras que en los perros se detectaron las genovariades A, B, C, D, bien de forma individual o como coinfecciones. Las genovariades zoonóticas A y B, se encontraron en un 88,8% de los aislados de *G. intestinalis* analizados (Dado *et al.*, 2012).

En otro estudio realizado en Barcelona, se recogieron 544 muestras de heces frescas de perros de albergues entre 2005 y 2008. La prevalencia total de parásitos intestinales fue del 61,8%, siendo *Giardia* el parásito más frecuentemente (40,6%) seguido de *Cystoisospora* sp. (16,4%), *T. vulpis* (11%), *T. canis* (7,5%), Ancylostomatidae (5,3%), *T. leonina* (2,2%), *Strongyloides stercoralis* (1,1%), *Capillaria* sp. (0,7%), familia Taenidae (0,7%), *Hymenolepis diminuta* (0,6%) y *Dipylidium caninum* (0,4%). El 31,5% de las muestras presentaban poliparasitismo, siendo *Giardia* spp. y *Cystoisospora* spp. la combinación más frecuentemente identificada. La novedad del estudio recayó en la información aportada acerca de la influencia de los factores de riesgo asociados con las instalaciones y la gestión de los diferentes albergues caninos. Por ello, los autores concluyeron que el uso de materiales no porosos y un sistema adecuado de drenaje así como el uso apropiado de desinfectantes y antiparasitarios, desempeñan un importante papel en la reducción de la prevalencia del parasitismo en los centros de protección animal. Esta información podría ser –según los autores– de utilidad en la toma de decisiones sobre los programas de salud en estos centros así como en el diseño e implementación de estrategias de control contra las infecciones parasitarias.

Algunos de los estudios se centran en el análisis de un parásito concreto. Así en un estudio realizado en Alava, se centraron en la detección de *Echinococcus*, tanto por serología como mediante coproantígenos. Los autores determinaron por serología que el 9,1% de los 754 perros analizados eran positivos en serología a este parásito y el 14,0% por coproantígeno (Benito *et al.*, 1996). Valores muy elevados que explicarían el mantenimiento del ciclo del parásito y en la necesidad de la desparasitación periódica de estos animales.

El interés de *Giardia* y *Cryptosporidium* ha aumentado en los últimos años, por ser responsables de diarreas en el hombre y en el ganado. En España en los últimos años se han realizado varios estudios para detectar estos parásitos en perros, con el objetivo de tratar de comprobar el papel de estos animales en la transmisión de la enfermedad al hombre.

En un estudio realizado en perros y gatos de albergue en el norte de España, detectaron *G. duodenalis* (33%) y *Cryptosporidium* spp. (4,1%) en perros y además se observaron co-infecciones por ambos parásitos en un 1,5% de los animales. El genotipado basado en la secuencia multi-locus de los genes de glutamato deshidrogenasa y  $\beta$ -giardina de *G. duodenalis* permitió la caracterización de 19 aislados caninos que fueron asignados sin ambigüedad a los subconjuntos AII (n = 7), BIII (n = 1) y BIV (n = 7), y *assemblajes* C (n = 3) y D (n = 1). *C. canis* (n = 5) y *C. hominis* (n = 1) fueron las especies de *Cryptosporidium* encontradas en perros. El hallazgo de las subunidades AII, BIII y BIV de *G. duodenalis* circulando en perros puede indicar un riesgo zoonótico, aunque los autores señalan que la mayoría de los aislados AII y BIV sub-genotipados corresponden a variantes genéticas no encontradas previamente en poblaciones humanas españolas (Gil *et al.*, 2017). Los mismos autores no consiguieron evidenciar la transmisión de ambos parásitos entre mascotas y sus dueños en un estudio realizado en paralelo con el anterior (de Lucio *et al.*, 2017)

## OBJETIVOS

---



En los países más desarrollados, los animales domésticos se están convirtiendo en una parte integral de los hogares, compartiendo estilo de vida y espacio con sus propietarios. Sin embargo, muchos de estos animales pueden actuar como reservorios de enfermedades zoonóticas que pueden afectar al hombre y que suponen un potencial problema de salud pública (Chomel & Sun, 2011).

Por otro lado en los últimos años, debido a una mayor concienciación de la sociedad, se ha tendido desde las administraciones públicas a una reducción de las perreras, como elementos de recogida y eliminación de animales callejeros, en favor de los albergues o protectoras de animales. Estos centros han pasado a tener una doble función, por una parte, la de recogida de perros (entre otras especies animales) abandonados en la calle y su mantenimiento y cuidado, y por otra, la de su inserción, en la medida de lo posible, en un nuevo hogar para evitar así el sacrificio innecesario de animales.

En los últimos años, como consecuencia de la crisis económica, el número de perros abandonados ha crecido enormemente. Así, un estudio realizado en este sentido por la Fundación Affinity, señala que en nuestro país se abandonaron 110.000 perros en 2010, siendo España uno de los países de la Unión Europea donde más abandonos de animales se producen (Fundación Affinity, 2011). También son numerosos los casos en los que dueños han optado por la reducción/eliminación de los tratamientos anti-parasitarios preventivos o curativos para sus mascotas, por no poder asumir su precio.

Paralelamente, el número de animales recogidos en los albergues ha aumentado significativamente, y aunque las instalaciones en la mayoría de ellos son adecuadas, el hacinamiento, la edad y la distinta procedencia de los animales favorecen, entre otros factores, la diseminación de infecciones parasitarias.

En nuestro ámbito geográfico los perros son una de las principales mascotas. Además, en las zonas rurales, los perros no solo actúan como animales de compañía o de guarda, sino que son animales de trabajo vigilando el ganado o se utilizan en la caza. Sin embargo, en muchas ocasiones los dueños desconocen los riesgos en cuanto a la transmisión de enfermedades, si el animal no está debidamente desparasitado. Hasta el momento no existen datos epidemiológicos sobre parásitos intestinales de origen

canino y con potencial zoonótico en la Comunidad Valenciana, y en concreto en la provincia de Castellón, y por tanto se desconoce el posible riesgo e impacto para la salud de la población humana de la región.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO PRINCIPAL**

Estimar la prevalencia, frecuencia y diversidad genotípica de parásitos intestinales en perros de la provincia de Castellón (España), con especial atención a las especies con potencial zoonótico y determinar el impacto socio-económico derivado de los casos humanos que éstos producen.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Identificar las especies de parásitos intestinales, especialmente los de carácter zoonótico, presentes en perros de diferentes procedencias (albergues, domésticos, de caza, de cría y pastores) de la provincia de Castellón.
2. Comparar los resultados obtenidos en función del estatus (según tengan dueño o no), aptitud (como mascotas o como herramientas de trabajo) y procedencia geográfica para identificar estos determinantes como posibles factores de riesgo de enfermedad humana transmitida a través de perros infectados.
3. Caracterizar los genotipos/genovariedades de *Cryptosporidium* spp y de *Giardia intestinalis* encontrados.
4. Estimar los costes directos e indirectos y la carga de enfermedad derivados de las zoonosis parasitarias de notificación obligatoria producidas por los parásitos hallados en la provincia de Castellón.

**CAPITULO I. Estudio sobre la  
presencia de parásitos  
intestinales de importancia  
zoonósica en perros en la  
provincia de Castellón**

---





## **1. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **1.1. ÁMBITO DEL ESTUDIO**

La provincia de Castellón pertenece a la Comunidad Valenciana y ocupa una superficie de 6.632 km<sup>2</sup>. Está ubicada en el este de España en las coordenadas geográficas 40° 10' 00" Lat. N, 00° 10' 00" Long. O (archivo oficial de la Diputación Provincial de Castellón), tiene 135 municipios distribuidos en 8 comarcas y actualmente su población es de 582.327 habitantes (Instituto Nacional de Estadística, 2015).

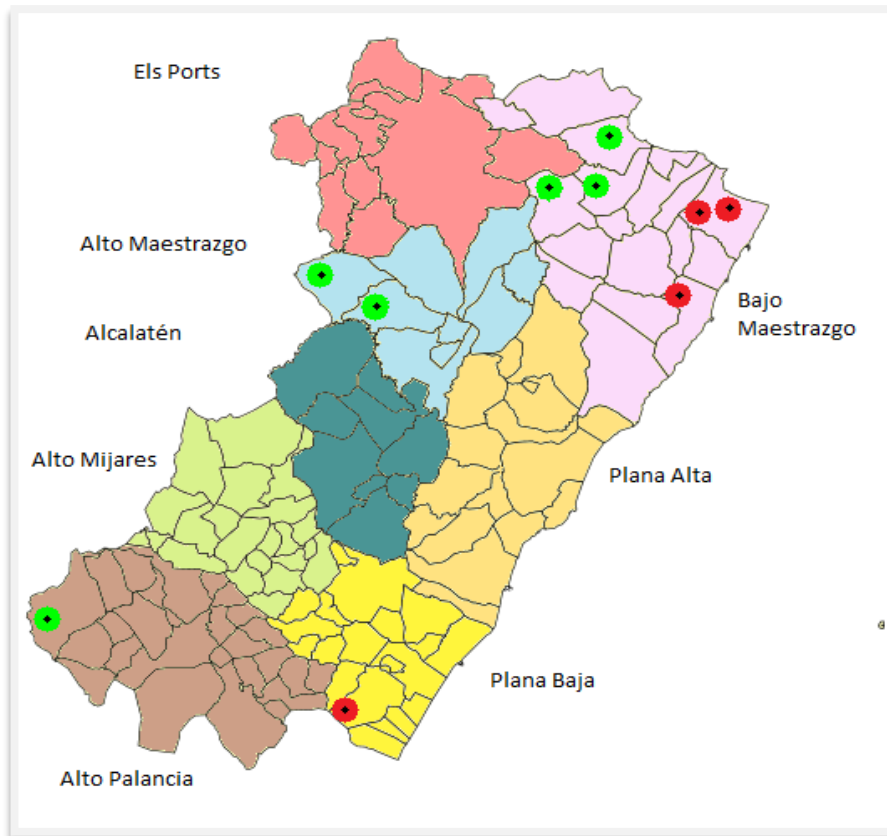
Según el RIVIA (Registro Informático Valenciano de Identificación Animal) a finales de 2015 había censados 143.431 perros en la provincia de Castellón, de los cuales 29.000 lo estaban en su capital, Castellón de la Plana.

Si tenemos en cuenta estos datos, habría un perro por cada cuatro habitantes.

### **1.2. DISEÑO DEL ESTUDIO**

Se ha llevado a cabo un estudio de diseño observacional y transversal. Se han recogido muestras de animales procedentes de albergues, de dueño, de cría, de caza y pastores de la provincia de Castellón, entre 2014 y 2016.

En la provincia de Castellón, los perros perdidos, abandonados y no deseados son recogidos, enviados y mantenidos en 5 residencias caninas. Todas ellas son núcleos zoológicos autorizados por la Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació de la Comunidad Valenciana, bajo el registro provincial correspondiente. Estas residencias actúan como centros de conservación y protección canina, prestando servicios adicionales como el de adopción de mascotas o la cría de razas de interés. Los ejemplares recogidos son albergados en espacios para tal fin, según características de edad, tamaño, o carácter del animal, disponiendo, también, algunos de estos albergues de parques de recreo. En este estudio se prestaron a colaborar 4 de estas residencias caninas (Fig. 7), identificadas de ahora en adelante como R1 a R4. Una de las cuatro residencias participantes, R1, es a su vez la empresa oficial de referencia, en convenio con la Diputación Provincial de Castellón, dedicada a recoger perros abandonados y extraviados de toda el área geográfica provincial.



**Figura 7.** Mapa por comarcas de la provincia de Castellón en el que se muestran las residencias o albergues caninos estudiados, R1-R4 (●) y las localidades visitadas para el muestreo de canes destinados al pastoreo de ovino y a la caza mayor del jabalí (●). Fuente: creación propia a partir de la imagen geográfica de *Municipios de la Provincia de Castellón 2003*. Emilio Gómez Fernández.

Como consecuencia de este convenio, la residencia R1, se encarga de recoger los perros sin dueño y los mantiene hasta su adopción. Además, tiene una sección donde aloja animales para su cría y cuidado, que se localiza de forma alejada al resto de animales.

Los perros se distribuyen en caniles que alojan entre uno y cuatro ejemplares pudiendo pertenecer éstos a cualquier municipio de la provincia (Fig. 8).



**Figura 8.** Vista general de los caniles de la residencia R1  
(La imagen ha sido obtenida de la página web del establecimiento.  
Nota: no se indica *url* para preservar el anonimato del sitio estudiado)

En la residencia R2, los animales se ubican en tres sectores generales en función de su tamaño (perros pequeños, medianos y grandes), albergando perros procedentes principalmente de la zona de la Comarca del Bajo Maestrazgo (Fig. 9).



**Figura 9.** Vista general del recinto de los mestizos grandes de la residencia R2. *Foto propia.*

La residencia R3, debido al convenio existente entre la residencia R1 y la Diputación Provincial de Castellón, apenas tiene una decena de perros extraviados en unas pocas jaulas (Fig. 10).



**Figura 10.** Vista general de los caniles de la residencia R3.  
(La imagen ha sido obtenida de la página web del establecimiento.  
Nota: no se indica *url* para preservar el anonimato del sitio estudiado)

La residencia R4 es muy pequeña, pero ha invertido en un gran espacio recreacional para los perros ya que, aunque alberga a perros extraviados, ofrece servicio principalmente de residencia (hotel) canina cuando los propietarios de los perros lo demandan (Fig. 11).



**Figura 11.** Vista general de los caniles de la residencia 4 (R4).  
(La imagen ha sido obtenida de la página web del establecimiento.  
Nota: no se indica *url* para preservar el anonimato del sitio estudiado)

En cuento al resto de animales, independientemente de su aptitud o función zootécnica, se les reclutó mediante solicitudes personales a los dueños.

### 1.3. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

El tamaño muestral se calculó en base a datos de frecuencias de aparición de parásitos intestinales en heces caninas (proporción) obtenidos en los estudios españoles realizados previamente en Murcia (Martínez Carrasco *et al.*, 2007), Córdoba (Martínez Moreno *et al.*, 2007), Madrid (Miró *et al.*, 2010) y Barcelona (Ortuño *et al.*, 2014), debido a que no se encontraron antecedentes sobre el tema de la zona de estudio. Para su cálculo se aplicó la siguiente fórmula, en la que la determinación de “n” permite la estimación de la prevalencia:

$$n = Z\alpha^2 p (1-p) / i^2$$

Donde:

**Z $\alpha$** : coeficiente del nivel de confianza; si la seguridad es de 95%,  $\alpha = 0,05$  y  $Z\alpha = 1,96$ .

**p**: valor según antecedentes en la literatura del parámetro que se quiere medir, expresado en tanto por uno. Para este caso, 0,54 (54% de frecuencia de aparición en perros residencias públicas de Murcia, según Martínez Carrasco *et al.*, 2007).

**i**: precisión  $\pm 10\%$ ; es decir  $i = 0,1$ .

A continuación, se realizó el ajuste de tamaño muestral calculado, en función de posibles pérdidas, según la siguiente fórmula

$$N_a = n (1/1-R)$$

Donde:

**N<sub>a</sub>**: número de muestras ajustado a las pérdidas.

**n**: tamaño muestral estimado, sin pérdidas.

**R**: 10% (porcentaje esperado de pérdidas; 0,1).

De la aplicación de ambos cálculos, se estimó un tamaño muestral mínimo de 347 muestras de heces ( $n = 312$ ).

Para determinar la frecuencia de aparición (global, por residencia y por especie) de parásitos intestinales en las heces estudiadas, se aplicó el siguiente cálculo:

$$\text{Frecuencia de aparición} = \frac{\text{número de muestras positivas a parásitos intestinales}}{\text{número total de muestras}} \times 100$$

#### **1.4. RECOLECCIÓN Y PRETRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

Se estudiaron un total de 348 muestras de heces caninas, recogidas entre julio de 2014 y julio de 2016, cubriéndose seis de las ocho comarcas de la provincia de Castellón. Las muestras estudiadas pertenecían a distintas categorías de animales, perros alojados en residencias caninas, perros con dueño de zonas urbanas, perros de criadero, perros pastores de ovejas y perros cazadores de jabalíes (Fig. 8).

Durante el periodo de muestreo, todas las muestras de las deposiciones se recogieron desde el sustrato donde habían sido depositadas (cemento o arena, Fig. 12) en recipientes estériles, de paredes rígidas, cerrados e identificados mediante un código alfanumérico y se transportaron al laboratorio refrigerados y protegidos de la luz.





**Figura 12.** Recolección de muestras de materia fecal canina en el recinto de los cachorros mestizos de la Residencia 2. *Foto propia.*

Todas las muestras fueron conservadas en el laboratorio de la Universidad CEU Cardenal Herrera (sede de Castellón), en nevera a 4 °C hasta su fraccionamiento, realizado siempre antes de las 24 h desde su recolección (Fig. 13).



**Figura 13.** Clasificación y fraccionamiento de muestras en el laboratorio de la Universidad CEU Cardenal Herrera (sede Castellón). *Foto propia.*

Para su estudio, las muestras fueron fraccionadas en alícuotas, según el tipo de análisis a realizar posteriormente:

- Alícuota 1: conservada en solución salina formolada (SSF, formol 5%), en relación 3:1 (muestra: fijador) para ser usada en estudios coproparasitológicos y de inmunofluorescencia.
- Alícuota 2: conservada en alcohol de 70° para la extracción y purificación de ADN genómico y posterior uso en técnicas moleculares para la detección, tipado y sub-tipado de *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp y de *Strongyloides* sp.

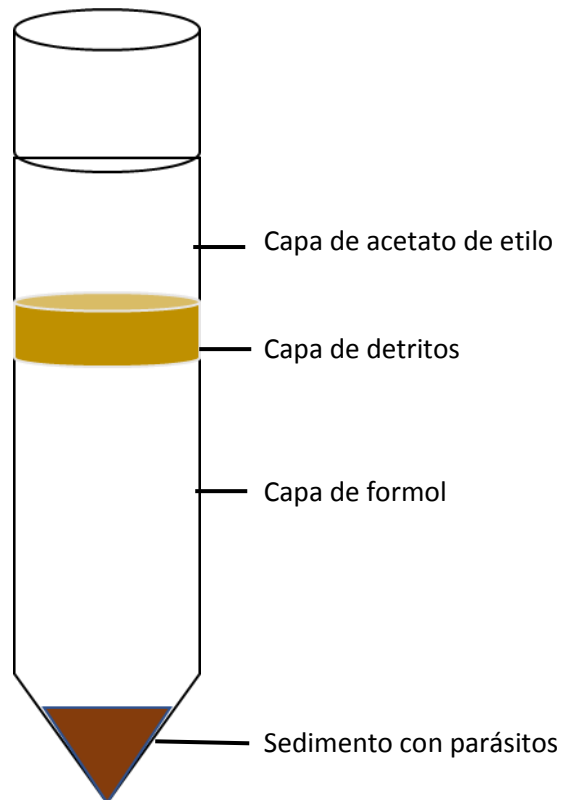
## **1.5. ANÁLISIS COPROPARASITOLÓGICO DE LAS MUESTRAS**

Previo a su fraccionamiento, se llevó a cabo la semiología macroscópica de las heces, para consignar la presencia de elementos anormales o estructuras parasitarias como proglótides de cestodos o adultos de nematodos. Los ejemplares encontrados se conservaron de manera individual en SSF, para su posterior identificación.

### **1.5.1. Concentración de las muestras**

Para la búsqueda microscópica de huevos, quistes y ooquistes de parásitos intestinales (estudios coproparasitológicos), las muestras fecales conservadas en SSF se concentraron mediante la técnica de sedimentación de Ritchie modificada, empleando formol-acetato de etilo (Fig. 14) y la técnica de flotación de Sheather (Fig. 15), en solución de sacarosa concentrada con una densidad específica de 1.275 g/cm<sup>3</sup>, según Martínez Carrasco *et al.*, 2007. Se utilizó una relación 1:10 muestra/solución concentradora y se aplicó una centrifugación de 3 minutos/1500 rpm.





**Figura 14.** Esquema de la distribución de capas de diferente polaridad que se obtienen mediante la técnica de Ritchie.

### 1.5.2. Observación mediante microscopio óptico

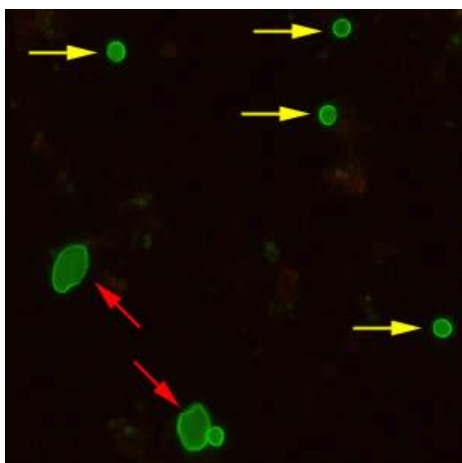
Una vez concentradas, las muestras fueron observadas, al menos por duplicado, con el microscopio óptico a 100x ó 400x aumentos, colocando 25  $\mu$ l del sedimento sobre un portaobjetos y depositando sobre él un cubreobjetos de 18 x 18 mm. Se anotaron los huevos y larvas de helmintos visualizados y los coccidios de mayor tamaño. Los estadios parasitarios fueron identificados siguiendo los criterios de Cordero del Campillo & Rojo Vázquez (1999).



**Figura 15.** Vista de tubos con sobrenadantes obtenidos por técnica de Sheather.

## 1.6. DETERMINACIÓN DE *GIARDIA* SPP Y *CRYPTOSPORIDIUM* SPP MEDIANTE INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA (IFD)

La determinación de quistes de *Giardia* y de ooquistes de *Cryptosporidium* se realizó mediante el kit MERIFLUOR® *Cryptosporidium/Giardia* (Meridian Bioscience, Inc.) que es una técnica de inmunofluorescencia directa (IFD) basada en el uso de anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína para la detección de antígenos de superficie de ambos parásitos. Para la realización del ensayo, una alícuota de 15 µl del concentrado de heces fue depositada en un portaobjetos, y se dejó secar en estufa a 37°C, siguiendo las indicaciones de la casa comercial. A continuación, se dispensaron 10 µl del conjugado y 10 µl del contracolorante sobre la muestra y se incubó a 37 °C durante 30 minutos en cámara húmeda y oscuridad. Finalmente, los portaobjetos se lavaron en PBS durante 1 minuto y, tras el secado a temperatura ambiente, se montó la preparación añadiendo líquido de montaje entre portaobjetos y cubreobjetos. La identificación de quistes y ooquistes se llevó a cabo mediante observación en un microscopio de fluorescencia MC63, empleando una longitud de excitación de 490-500 nm y un filtro de barrera de 510-530 nm. Para ello, se utilizó un aumento de 200x ó 400x en busca del color verde manzana brillante y la morfología característica de los quistes de *Giardia* o de los ooquistes de *Cryptosporidium*. El material de fondo de la muestra queda teñido de un color naranja suave hasta rojo (Fig. 16).



**Figura 16.** Ooquistes de *Cryptosporidium* (flechas amarillas) y quistes de *Giardia* (flechas rojas) detectados con anticuerpos marcados con fluoresceína (Fuente CDC).

## **1.7. DETERMINACIÓN DE VARIANTES GÉNICAS DE *GIARDIA INTESTINALIS* Y *CRYPTOSPORIDIUM SPP.***

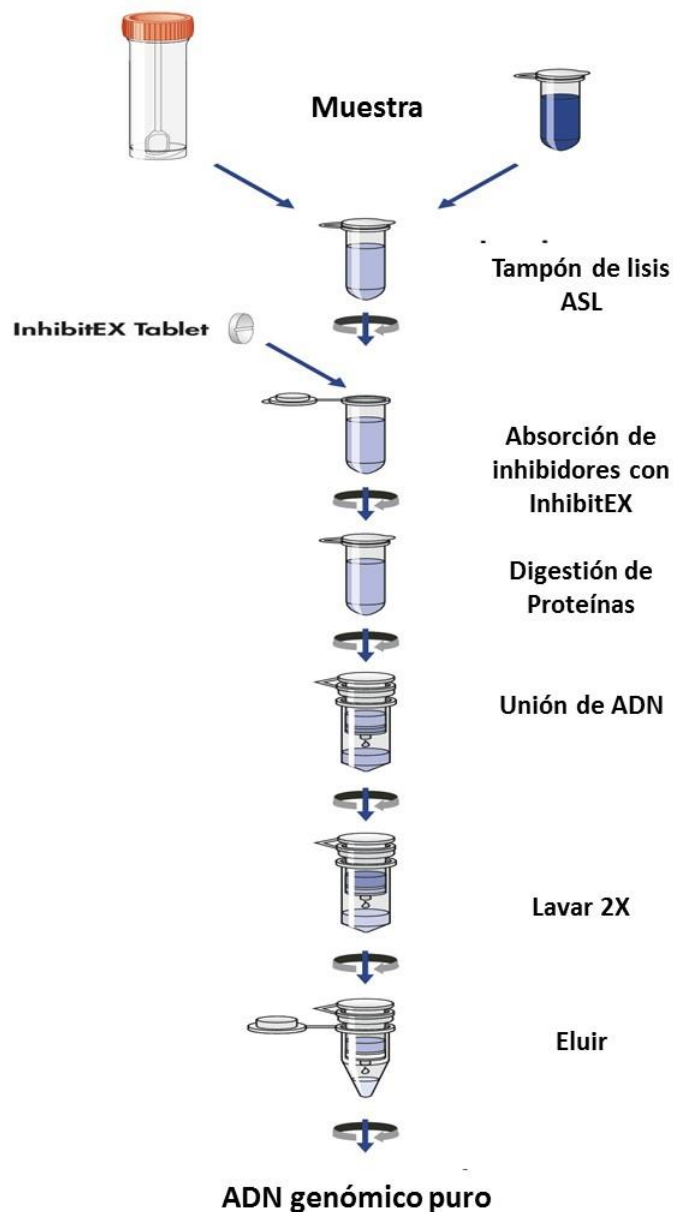
Para la detección de especies parasitarias mediante técnicas moleculares y posteriores estudios de genotipado, se preparó una alícuota de cada muestra en alcohol etílico 70°, en relación 1:1 muestra/alcohol. Las muestras fueron almacenadas a -20°C hasta su uso.

En aquellas muestras en las que se detectó la presencia de quistes de *Giardia*, u oquistes de *Cryptosporidium* mediante microscopía óptica convencional y/o IFD, y larvas compatibles con *Strongyloides spp*, se procedió a la identificación molecular correspondiente. El proceso de extracción de ADN genómico y de las técnicas basadas en PCR y secuenciación, para confirmar la presencia de estos patógenos y proceder a la identificación de especies y genotipos se realizó en colaboración con el Servicio de Parasitología del Centro Nacional de Microbiología (Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda-Madrid).

### **1.7.1. Extracción y purificación de ADN genómico en muestras de heces**

El ADN total fue extraído a partir de una alícuota de 200 mg de materia fecal de cada muestra canina usando el kit comercial QIAamp® DNA Stool Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Alemania), que emplea columnas de afinidad, de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Fig 17). La materia fecal contiene numerosos inhibidores de la PCR (polisacáridos complejos, lípidos, ácidos biliares), además de ADN de otros microorganismos (Schrader *et al.*, 2012), por ello se recurrió a este kit que elimina los inhibidores más frecuentes en este tipo de muestras.

Las muestras de ADN purificado (200 µl) fueron conservadas a -20 °C para su posterior estudio mediante PCR en tiempo real y/o PCRs anidadas y semi-anidadas.



**Figura 17.** Esquema de extracción de ADN mediante QIAamp® DNA Stool Mini Kit

### 1.7.2. Detección molecular de *Giardia intestinalis*

Se realizó mediante el uso de una PCR a tiempo real (qPCR) basada en la amplificación específica de un fragmento de 62 pares de bases del gen codificante de la subunidad pequeña de ARN ribosómico (*ssu rRNA*) del parásito (Verweij *et al.*, 2003). Las reacciones de amplificación fueron llevadas a cabo en un volumen final de 25  $\mu$ L conteniendo 3  $\mu$ L de ADN extraído, 12,5 pmol de los cebadores Gd-80F y Gd-127R, 10 pmol de sonda (Tabla 4) y 12,5  $\mu$ L de la polimerasa TaqMan® *Gene Expression Master Mix* (Applied Biosystems, California, EE.UU.). Las reacciones de amplificación se llevaron

a cabo en un termociclador Corbett Rotor-Gene 6000 (Qiagen Corbett, Hilden, Alemania). Las condiciones de la PCR fueron las siguientes

Paso	Temperatura	Tiempo	Nº Ciclos
Desnaturalización inicial	55°C	2 min	45
	95°C	15 min	
Desnaturalización	95°C	15 s	
Alineación	60°C	30 s	
Extensión	72°C	30 s	
Extensión final	72°C	10 min	

### 1.7.3. Caracterización molecular de las genovariedades (*assemblages*) de los aislados de *Giardia intestinalis*

Para la determinación de las genovariedades de los aislados de *Giardia intestinalis* que resultaron positivos mediante qPCR se empleó una PCR que permite la amplificación de los genes codificantes de la glutamato deshidrogenasa (*gdh*) y  $\beta$ -giardina (*bg*) del parásito.

#### - Amplificación de *gdh*

Se utilizó el protocolo de PCR semi-anidada propuesto por Read *et al.* (2004) adaptado para amplificar un fragmento de aproximadamente 432 pares de bases del gen *gdh*. La mezcla de reacción se llevó a cabo en un volumen final de 25  $\mu$ L consistentes en 5  $\mu$ L de ADN molde, 0,5  $\mu$ M de cada cebador (GDHeF/GDHiR en la primera reacción y GDHiF/GDHiR en la segunda reacción, respectivamente (Tabla 9), 2.5 unidades de MyTAQ<sup>®</sup> DNA polimerasa (Bioline GmbH, Luckenwalde, Alemania), y 5  $\mu$ L de tampón de reacción 5x MyTAQ<sup>®</sup> conteniendo dNTPs 5mM y MgCl<sub>2</sub>15 mM. Ambos protocolos de amplificación consistieron en un paso de desnaturalización inicial a 95°C durante 3 minutos, seguidos de 35 ciclos de 95°C durante 30 segundos, 55°C durante 30 segundos y 72°C durante 1 minuto, con una extensión final de 72°C durante 10 minutos.

### - Amplificación de *bg*

De manera similar, se amplificó un fragmento de aproximadamente 511 pares de bases del gen *bg* de *G. intestinalis*, usando el protocolo de PCR anidada, descrita por por Lalle *et al.* (2005). En este caso, las mezclas de reacción también se llevaron a cabo en un volumen final de 25  $\mu$ L, conteniendo 3  $\mu$ L de ADN molde, 0,4  $\mu$ M de cada cebador (G7\_F/G759\_R en la primera reacción y G99\_F/G609\_R en la segunda reacción, respectivamente, Tabla 9), 2,5 unidades de MyTAQ<sup>®</sup> ADN polimerasa (Bioline GmbH) y 5  $\mu$ L de tampón de reacción 5x MyTAQ<sup>®</sup> conteniendo dNTPs 5mM y MgCl<sub>2</sub>15mM.

La primera PCR fue realizada siguiendo las siguientes condiciones de amplificación: 1 ciclo de 95°C durante 7 minutos, seguida de 35 ciclos de 95°C durante 30 segundos, 65°C durante otros 30 segundos y 72°C durante 1 minuto con una extensión final de 72°C durante 7 minutos. Las condiciones para la segunda PCR fueron idénticas a las de la primera PCR, excepto que la temperatura de hibridación fue de 55°C.

Todas las reacciones de PCR anidadas o semi-anidadas fueron llevadas a cabo en un termociclador 2720-Applied Biosystems-. Se utilizaron como controles, muestras de ADN positivas y negativas confirmadas previamente en el laboratorio del Servicio de Parasitología del Instituto de Salud Carlos III (Majadahonda), que se incluyeron en cada ronda de PCR. Los productos de amplificación obtenidos, fueron resueltos mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% (Conda, Madrid, España) teñidos con *Pronasafe* (Conda) y posteriormente visualizados en un transiluminador de luz ultravioleta. Los amplicones positivos fueron directamente secuenciados en ambas direcciones usando la pareja de cebadores internos descrita anteriormente. Se procedió a la secuenciación del ADN mediante electroforesis capilar usando la tecnología BigDye<sup>®</sup> Terminator en un secuenciador automatizado ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems).

#### 1.7.4. Detección y caracterización molecular de los aislados de *Cryptosporidium* spp.

La presencia de *Cryptosporidium* spp. se evaluó usando un protocolo de PCR anidada para amplificar un fragmento génico de 587 pares de bases del gen *ssu* rRNA del parásito (Tiangtip & Jongwutiwes, 2002). Las reacciones de amplificación, se llevaron a cabo en un volumen final de 50  $\mu$ L consistentes en 3  $\mu$ L de muestra del ADN, 0,3  $\mu$ M de cada cebador (CR-P1/CR-P2 en la primera reacción y CR-P3/CPB-DIAGR en la segunda reacción, respectivamente, Tabla 9), 2,5 unidades de MyTAQ<sup>®</sup> ADN polimerasa (Bioline GmbH) y 5  $\mu$ L de tampón de reacción 5x MyTAQ<sup>®</sup>, conteniendo dNTPs 5mM y MgCl<sub>2</sub>15 mM.

Ambas reacciones de PCR se desarrollaron en las siguientes condiciones:

Paso	Temperatura	Tiempo	Nº Ciclos
Desnaturalización inicial	94°C	3 min	
Desnaturalización	94°C	40 s	35
Alineación	50°C	40 s	
Extensión	72°C	1 min	
Extensión final	72°C	10 min	



**Figura 18.** Termociclador 2720- Applied Biosystems

Tabla 9. Oligonucleótidos usados para la identificación molecular y caracterización de *G. intestinalis* y *Cryptosporidium* spp., en este estudio.

Protozoo diana	Locus	Oligonucleótido	Secuencia (5´-3´)	Referencia
<i>Giardia intestinalis</i>	<i>ssu</i> rRNA	Sonda	FAM-CCCGCGGCGGTCCCTGCTAG-BHQ1	Verweij <i>et al.</i> (2003)
		Gd-80F	GACGGCTCAGGACAACGGTT	Verweij <i>et al.</i> (2003)
		Gd-127R	TTGCCAGCGGTGTCCG	Verweij <i>et al.</i> (2003)
	<i>Gdh</i>	GDHeF	TCAACGYAAYCGYGGYTTCCGT	Read <i>et al.</i> (2004)
		GDHiF	CAGTACACCTCYGCTCTCGG	Read <i>et al.</i> (2004)
		GDHiR	GTTRTCCTTGACATCTCC	Read <i>et al.</i> (2004)
	<i>Bg</i>	G7	AAGCCCACGACCTCACCCGAGTGC	Lalle <i>et al.</i> (2005)
		G759-R	GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC	Lalle <i>et al.</i> (2005)
		G99	GAACGAACGAGATCGAGGTCCG	Lalle <i>et al.</i> (2005)
		G609_R	CTCGACGAGCTTCGTGTT	Lalle <i>et al.</i> (2005)
<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>ssu</i> rRNA	CR-P1	CAGGGAGGTAGTGACAAGAA	Tiangtip & Jongwutiwes (2002)
		CR-P2	TCAGCCTTGCGACCATACTC	Tiangtip & Jongwutiwes (2002)
		CR-P3	ATTGGAGGGCAAGTCTGGTG	Tiangtip & Jongwutiwes (2002)
		CPB-DIAGR	TAAGGTGCTGAAGGAGTAAGG	Tiangtip&Jongwutiwes (2002)



## 1.8. DETERMINACIÓN MOLECULAR DE *STRONGYLOIDES* SP.

### 1.8.1. Extracción y purificación de ADN de *Strongyloides* sp.

Antes de la extracción de ADN, 1 g de cada muestra de heces se resuspendió en 8 ml de solución salina y se concentró utilizando columnas Bioparapred-Midi (Leti Diagnostics, Barcelona, España). Tras desechar el sobrenadante obtenido, se usaron 200 mg del sedimento resultante para la extracción total del ADN utilizando el kit QiaAmp ADN Mini (Qiagen, Hilen, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. Como control positivo se usó ADN genómico de larvas L3 de *Strongyloides venezuelensis* (proporcionado por IBSAL-CIETUS, Salamanca, España) que había sido preparado como se describe en Simpson *et al.* (1982). Se midió la concentración de todas las muestras de ADN obtenidas en un espectrofotómetro Nanodrop ND-100 (NanoDrop Technologies, Nueva York, EE.UU.). Las muestras de ADN se almacenaron -20 °C hasta su posterior estudio que fue realizado en colaboración con el Servicio de Parasitología del Instituto de Salud Carlos III.

### 1.8.2. Detección molecular de *Strongyloides* sp.

Para detectar la presencia del parásito, se utilizaron cebadores específicos para *Strongyloides* sp. dirigidos al gen de la subunidad pequeña de ARN ribosómico (*ssu* rRNA) (Verweij *et al.*, 2009) mediante una PCR en tiempo real, siguiendo el protocolo descrito por Saugar *et al.*, 2015. Para ello se empleó el kit Quantimix Easy Master Mix (Biotools B&M Laboratories, Madrid), y en la mezcla de reacción se incluyeron 5µl del ADN de la muestra, 0,5 µl de SybrGreen 50 × (Invitrogen, San Diego, CA, USA) y 0,2µM de cada uno de los primers específicos para *S. stercoralis*.

F: 5´ GAATCCAAGTAAACGTAAGTCATTAGC 3´

R: 5´ TGCCTCTGGATATTGCTCAGTTC 3´

Paso	Temperatura	Tiempo	Nº Ciclos
Desnaturalización inicial	95°C	15 min	
Desnaturalización	95°C	10 s	
Alineación	60°C	10 s	50
Extensión	72°C	30 s	
Extensión final	72°C	10 min	

Al final de la PCR a tiempo real, la especificidad de los productos de amplificación se evaluó mediante el análisis de la curva “melting”. La amplificación y la detección de la fluorescencia se realizó en un equipo Corbett RotorGene™ 6000 Real-Time PCR System (Qiagen, Hilden, Germany) y con el software version 1.7 Rotor Gene 6000 Series para el análisis de los datos.

## **1.9. INTERPRETACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS**

### **1.9.1. Cálculo de la prevalencia de los parásitos visualizados por microscopía óptica y/o IFD**

Las muestras fueron consideradas positivas si se observaba la presencia de una o más especies parasitarias por examen macroscópico o microscópico, y por IFD en el caso de *Giardia* y *Cryptosporidium*. Se consideraron negativas aquellas muestras en las que no se detectó la presencia de parásitos intestinales por ninguno de estos métodos.

Se calcularon frecuencias absolutas y relativas de aparición de parásitos intestinales, y se estimó la prevalencia total de parásitos intestinales zoonóticos. Se utilizó el test del  $\chi^2$  para el estudio de posibles diferencias entre las frecuencias de aparición de parásitos intestinales observadas y las poblaciones caninas estudiadas en función de variables como el sexo, estatus (con dueño, caza, pastor, cría o abandonado) y la procedencia geográfica del animal. Se consideró un valor de probabilidad (P) <0.05 como estadísticamente significativo.

Para la estimación de la prevalencia y la comparación de proporciones de frecuencia de aparición de parásitos intestinales en las residencias estudiadas, se utilizó la herramienta WinEpi, Working IN EPIdemiology (<http://www.winepi.net/sp/disease/cprev1.asp>).

Se consideró un valor de sensibilidad de 80% y de especificidad de 95% de las técnicas diagnósticas utilizadas; basados en datos de bibliografía (Aquino *et al.*, 2012; Jara *et al.*, 2007; Nuñez *et al.*, 1991), expresándose el resultado como valor de prevalencia (IC95%).

### **1.9.2. Estudio de secuencias de los productos de amplificación de PCR**

Los datos de las secuencias en bruto en ambas direcciones fueron visualmente inspeccionados usando el programa informático de acceso libre, Chromas Lite, versión 2.1 (<http://chromaslite.software.informer.com/2.1/>), prestando especial atención a la presencia de posiciones ambiguas (dobles picos) en los cromatogramas. La herramienta BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) se usó para comparar las secuencias nucleotídicas obtenidas con las depositadas en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Tras generar las correspondientes secuencias consenso, se procedió a su alineamiento con secuencias de referencia apropiadas usando el programa informático de acceso libre MEGA 6 (<http://www.megasoftware.net/>) para identificar los *assemblages/sub-assemblages* de *G. intestinalis* y las especies y sub-genotipos de *Cryptosporidium* (Tamura *et al.*, 2013).

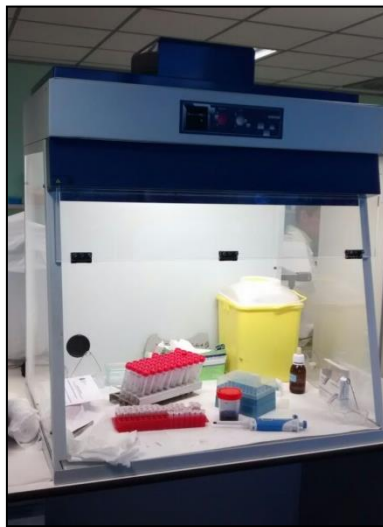
### **1.9.3. Análisis filogenéticos**

Para el análisis de inferencias filogenéticas entre las secuencias de *G. intestinalis* generadas en los diferentes *loci* estudiados, se construyeron los correspondientes árboles filogenéticos usando el método Neighbor-Joining dentro del programa MEGA 6. Las distancias evolutivas fueron computadas utilizando el modelo de Kimura de dos parámetros y modeladas con una distribución gamma (Kimura, 1980). El grado de confianza de los análisis en cada rama del árbol se estimó mediante el método *bootstrap* usando 1000 réplicas. Se incluyeron también secuencias de referencia representativas de los diferentes *sub-assemblages* de *Giardia intestinalis* tomadas de la base de datos del NCBI, así como secuencias de origen canino de estudios moleculares epidemiológicos previos, llevados a cabo en Madrid, España.

### **1.9.4. Bioseguridad, control de sesgos y aspectos éticos.**

En todas las fases del estudio se aplicaron las medidas de bioseguridad requeridas para el manejo de microorganismos de riesgo 2 (ABSA, 2014), aplicándose medidas de protección personal tales como uso de bata, mascarillas y guantes y fraccionamiento, bajo campana de seguridad (Fig. 19). Se aplicó técnica de enmascaramiento del analista para el control de sesgos. El presente estudio no implicó la realización de técnicas ni procedimientos invasivos que ocasionaran sufrimiento a los animales. Para la realización del trabajo de campo, se estableció en primer término un

contacto telefónico con los responsables de las residencias de interés y los propietarios de granjas de explotación, y se concertó una cita personal con ellos para explicarles la naturaleza del estudio. En dicha cita, se les informó sobre el trabajo a realizar, las características de los muestreos y los procedimientos generales de laboratorio a desarrollar. También se respondieron las dudas y consultas que estos responsables plantearon. Tras la aceptación voluntaria para participar y colaborar en este estudio, se acordó fecha y horario para la realización de los muestreos. Se acordó también que, una vez finalizado el estudio y aprobado el informe de resultados por las instancias pertinentes de la Universidad, se enviaría un informe detallado con los hallazgos más relevantes y sus implicaciones en salud pública veterinaria a todos los establecimientos participantes. Durante la realización del presente estudio, tanto los datos personales y de contacto de los responsables de cada residencia como los datos de estos establecimientos, han sido anonimizados para garantizar su confidencialidad. Todo el material escrito, impreso y electrónico ha sido codificado y sólo es conocido por el grupo de investigadores, según lo previsto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.



**Figura 19.** Muestras fraccionadas en tubos, bajo campana de bioseguridad. *Foto propia.*

Los datos sobre población canina de la Provincia se obtuvieron del registro RIVIA, mediante solicitud por escrito al Consell Valencià de Col·legis Veterinaris.

## 2. RESULTADOS

### 2.1. SELECCIÓN Y RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

En la residencia R1 se tomaron 175 muestras de heces durante todo el tiempo que duró el estudio (2014-2016). De éstas, 24 pertenecían a perros destinados al comercio de razas de interés y el resto (151) a perros abandonados, extraviados o entregados por personas que por diferentes circunstancias ya no los deseaban. Dichos perros procedían de 23 localidades de la provincia de Castellón. De las 175 muestras, 94 pudieron atribuirse a un perro concreto; mientras que el resto de muestras (81), correspondieron a caniles donde se alojaba más de un animal pudiendo éste ser, de un sexo u otro.

La residencia R2 albergaba, en el momento del estudio, al menos 80 canes. De ella se tomaron 41 muestras de perros procedentes de Vinaròs y alrededores. Todas estas muestras estudiadas correspondían a caniles o jaulas comunes, luego no se pudo atribuir cada muestra a su perro y por tanto a un sexo concreto.

La residencia R3 tenía recogidos once perros cuando se acudió al muestreo. Todos ellos habían sido recogidos en la localidad de Peñíscola y en sus alrededores, también al norte de la provincia. Se tomaron 9 muestras en total.

La residencia 4 alojaba al menos veinte perros procedentes de la Vall d'Uixò, al sureste de la provincia de Castellón. Se tomaron 17 muestras en total.

De las 4 residencias mencionadas, se colectaron 218 muestras de materia fecal canina pertenecientes a perros extraviados o abandonados, sin embargo, para la recogida de heces correspondientes a perros de caza y pastores de ovino, se visitaron granjas y propiedades particulares donde residían dichos animales (Tabla 10). También se examinó un pequeño conjunto de muestras pertenecientes a perros urbanos con dueño (de cría y domésticos) con la intención de tomarlas como control de animales que debían estar desparasitados y en mejores condiciones higiénicas.

**Tabla 10. Número de muestras recogidas según la procedencia o aptitud del perro.**

<b>Categoría de los perros</b>	<b>n</b>
Abandonados	218
Cazadores	68
Pastores	24
De cría	24
Domésticos	14
<b>Total</b>	<b>348</b>

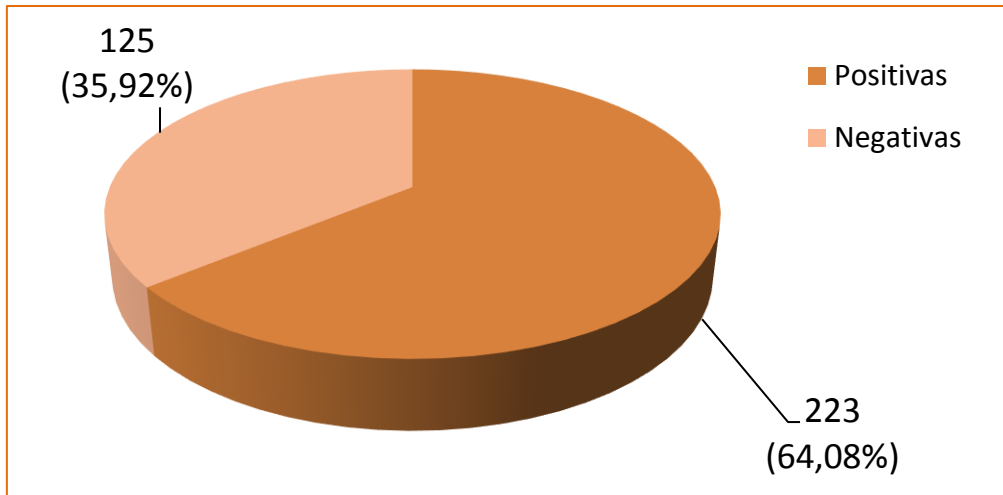
## **2.2. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS MACROSCÓPICOS Y MICROSCÓPICOS DE LAS HECES**

De las 348 muestras estudiadas, 223 resultaron positivas para parásitos intestinales (Fig.20). La prevalencia aparente en la población sería de 18,39% (14,33-22,46%), sin embargo, dada la sensibilidad y la especificidad del diagnóstico utilizado, se ha estimado una prevalencia real (Tabla 11) de parásitos intestinales en perros de la provincia de Castellón (España) del 17,85% (13,84-21,87%).

**Tabla 11. Características del diagnóstico utilizadas para el cálculo de la prevalencia real de parásitos intestinales en perros de la provincia de Castellón.**

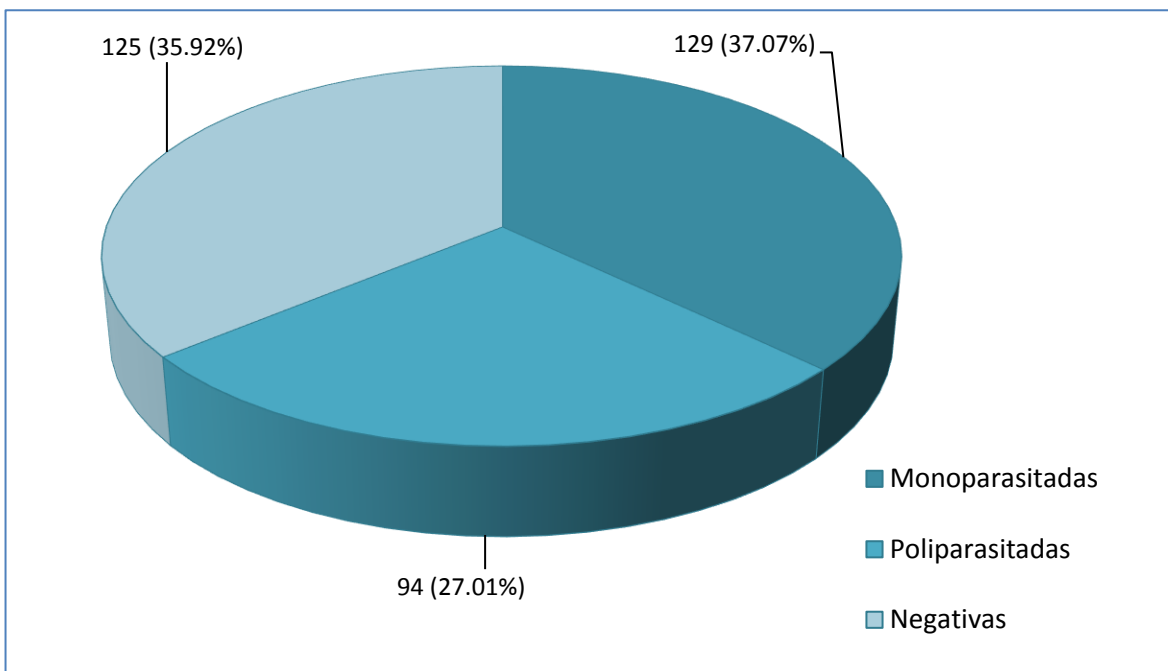
<b>Variable</b>	<b>Valor</b>
Tamaño de la población	143.431
Tamaño de la muestra	348
Positivos en la muestra (%)	64
Sensibilidad (%)	80
Especificidad (%)	95

Cálculos realizados con la herramienta WinEpi: Working IN EPIdemiology  
(<http://www.winepi.net/sp/disease/cprev1.asp>)

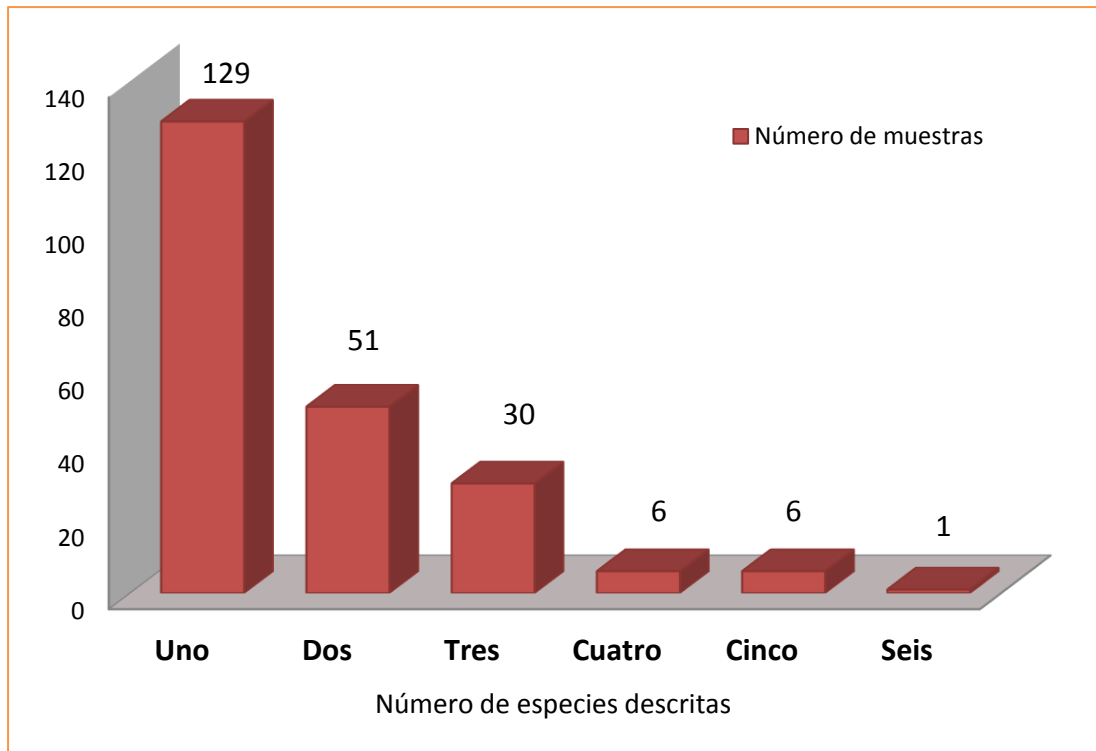


**Figura 20.** Relación de muestras positivas y negativas para parásitos intestinales caninos (n=348).

De entre las muestras positivas (n=223), el 57,85% presentó una sola especie de parásitos, mientras que el 42,15% restante presentó poliparasitismo. A continuación (Fig. 21), se muestra un gráfico en el que se contrastan estos resultados con las muestras negativas.



**Figura 21.** Muestras monoparasitadas y poliparasitadas para parásitos intestinales caninos, en relación con las muestras negativas (n=348).



**Figura 22.** Relación del número de especies parasitarias descritas en las muestras positivas (n=223).

Aunque el monoparasitismo es mayoritario, en la figura anterior (Fig. 22) puede observarse que el poliparasitismo generado por la presencia de dos y tres agentes patógenos, respectivamente, también es sustancial.

Los exámenes macroscópico y microscópico permitieron identificar un total de 16 especies de parásitos intestinales, de las cuales 10 correspondían a helmintos (nematodos y cestodos) y 6 a protozoos. A continuación, se presentan las especies y los estadios morfológicos que se pudieron observar en las muestras y seguidamente se incluyen una serie de imágenes detalladas.

#### **-Nematodos**

Larvas indeterminadas de nematodos (Fig. 23), *Toxocara canis*, adultos y huevos (Figs. 24-26), *Toxascaris leonina*, huevos (Fig. 27), *Physaloptera*, huevos (Fig. 28), *Trichuris vulpis*, huevos (Figs. 29-30), ancylostomatidos, larvas en fase de eclosión, huevos, (Fig. 33-36), *Strongyloides* sp., (larvas, Fig. 37).



**-Cestodos**

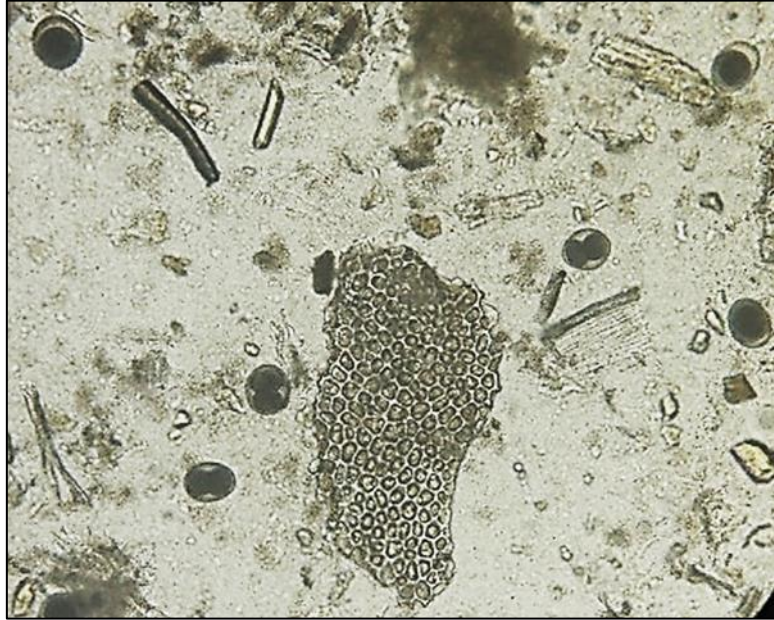
*Dipylidium caninum*, adultos y cápsulas ovíferas (Figs. 38-39), familia Taeniidae, huevos (Fig. 40), *Hymenolepis nana*, huevos (Fig. 41).

**-Protozoos**

*Giardia intestinalis*, quistes (Fig. 42); *Cryptosporidium* sp., ooquistes, *Entamoeba coli*, quistes; *Blastocystis hominis*, quistes; *Cystoisospora* sp. ooquistes (Fig. 43), *Neospora* sp., ooquistes.



**Figura 23.** Larvas indeterminadas de nematodo. 100x

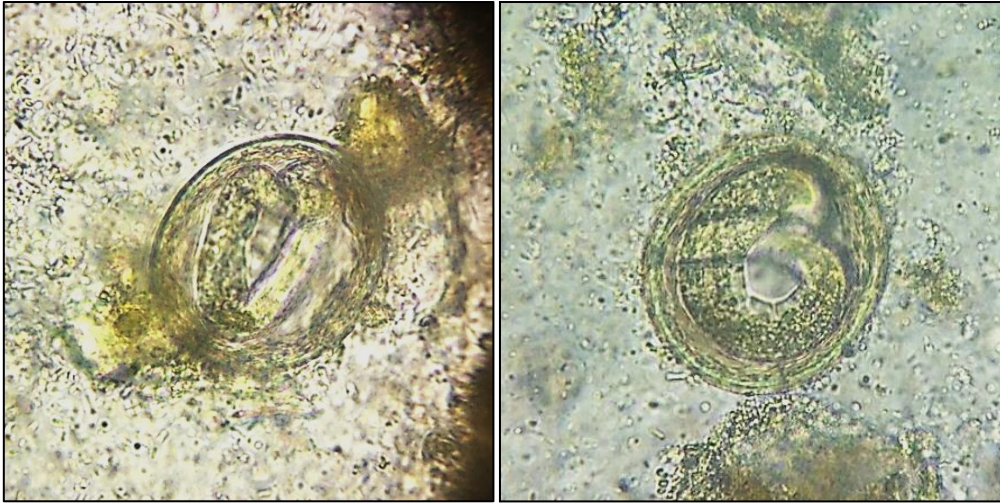


**Figura 24.** Infestación masiva por *Toxocara canis*. Huevos en división celular. 100x



**Figura 25.** Huevo de *T. canis*. 400x





**Figura 26.** Huevos larvados de *T. canis*. 400x



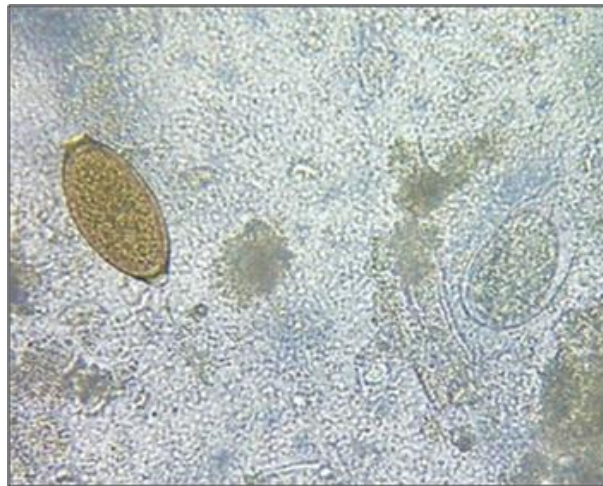
**Figura 27.** Huevo larvado de *Toxascaris leonina*. 400x



**Figura 28.** Huevo larvado de *Physaloptera* sp. 400x

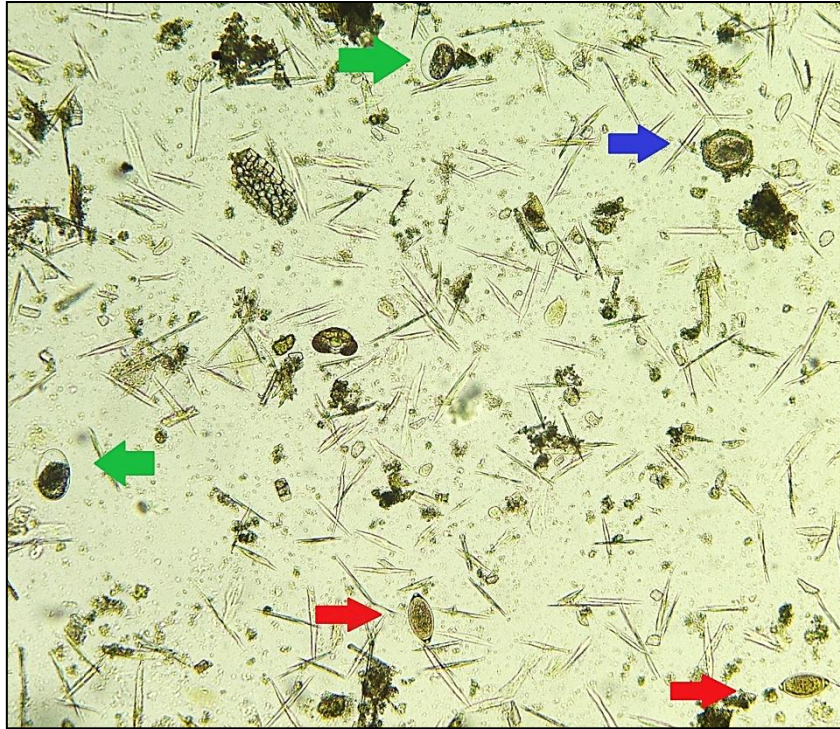


**Figura 29.** Huevo de *Trichuris vulpis*. 400x



**Figura 30.** Huevos de *Trichuris vulpis* y de un ancylostomido. 400x





**Figura 31.** Poliparasitismo triple en el mismo campo, dos huevos embrionados de Ancylostomatidae (flechas verdes), dos huevos de *Trichuris vulpis* (flechas rojas) y un huevo larvado de *T. canis* (flecha azul). 100x



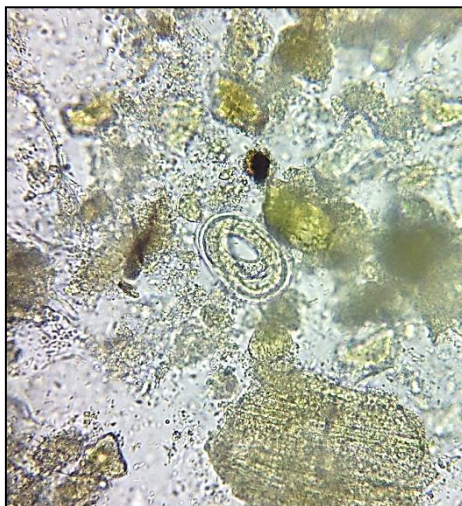
**Figura 32.** Poliparasitismo triple. Huevos de *T. vulpis* (der.), Ancylostomatidae (centro) y *T. canis* (izq.). 400x



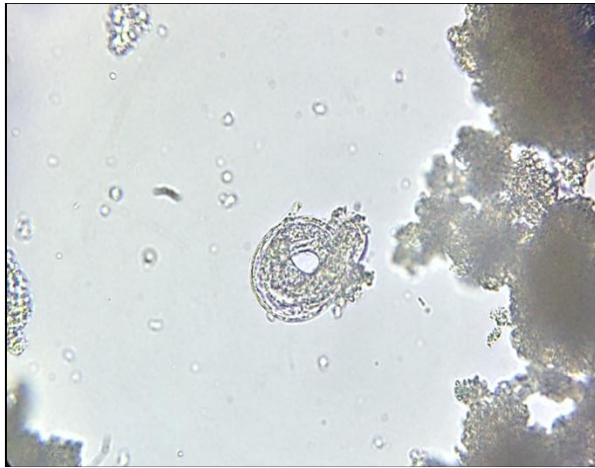
**Figura 33.** Huevo embrionado de Ancylostomatidae. 400x



**Figura 34.** Huevo embrionado de *Ancylostoma caninum*, 8 blastómeros pequeños. 400x



**Figura 35.** Huevo larvado de ancylostomátido. 100x

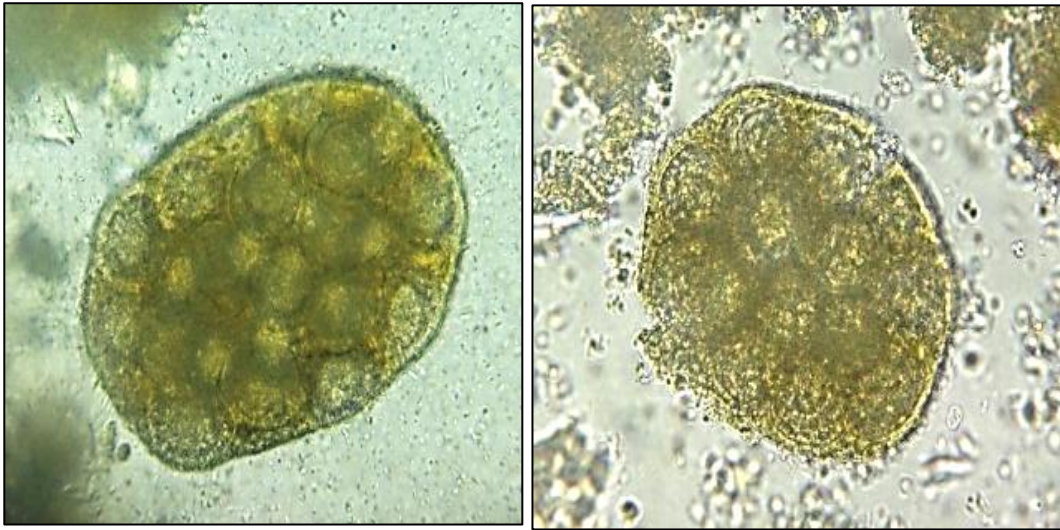


**Figura 36.** Huevo larvado de ancylostomátido. 400x

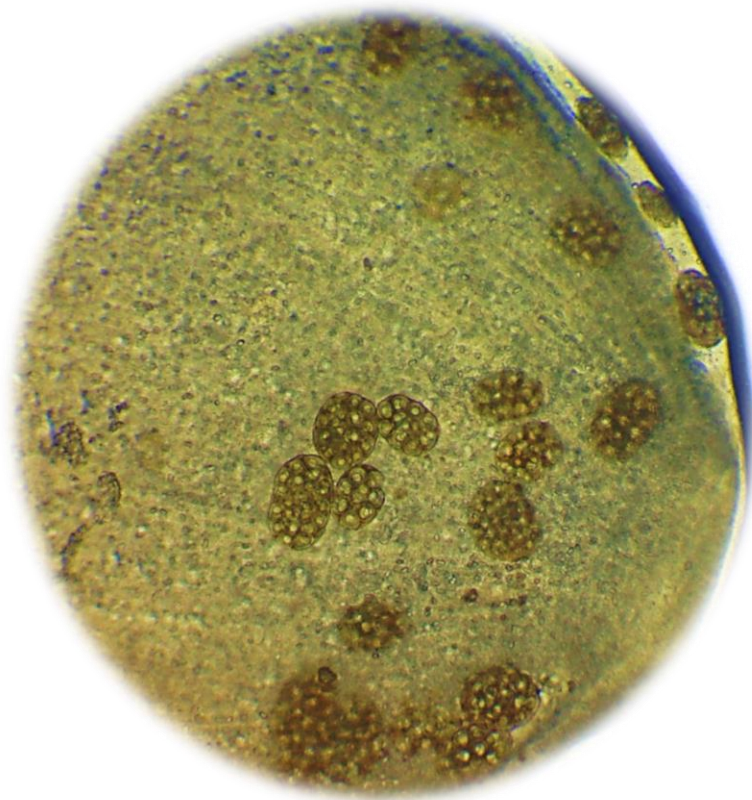


**Figura 37.** Larva L1 de *Strongyloides* sp. 100x



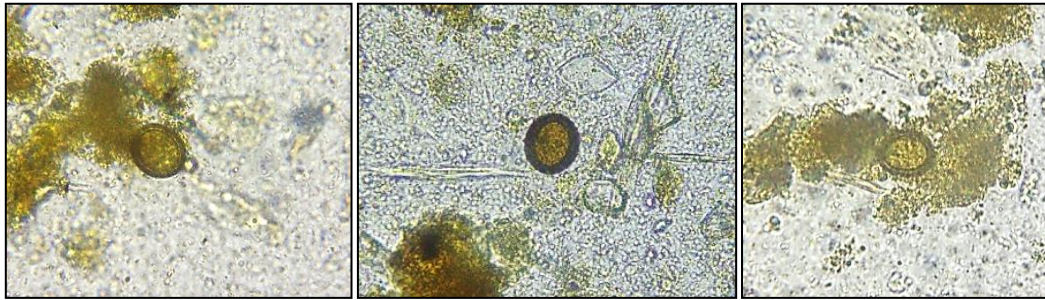


**Figura 38.** Cápsulas ovíferas repletas de huevos de *Dipylidium caninum*.400x



**Figura 39.** Porción terminal de la proglótide grávida de un adulto de *D. caninum* repleta de cápsulas ovíferas llenas, a su vez, de huevos. 400x

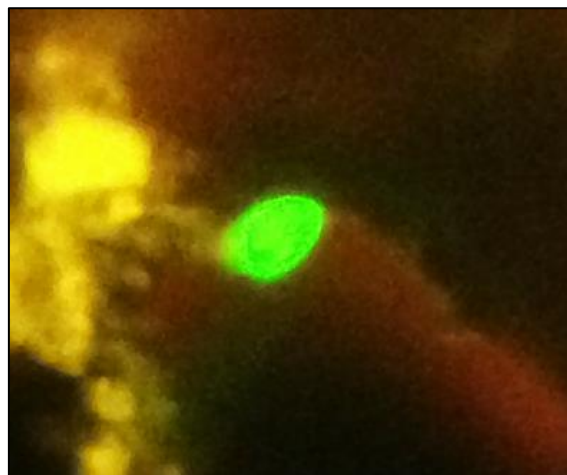




**Figura 40.** Huevos de taenidos. 100x



**Figura 41.** Huevo de *Hymenolepis nana* (400x)



**Figura 42.** Quiste de *Giardia intestinalis* observado mediante IFD (400x)



**Figura 43.** Ooquiste de *Cystoisospora* sp. 400x

### **2.3. ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE APARICIÓN DE PARÁSITOS INTESTINALES EN PERROS DE LA PROVINCIA DE CASTELLÓN**

#### **2.3.1. Frecuencia global de los parásitos intestinales en perros**

De entre las muestras recogidas se pudieron obtener, como se menciona anteriormente, 16 especies parasitarias cuya frecuencia de aparición global se muestra en la Tabla 12.

Puede observarse que las especies más prevalentes son *Giardia intestinalis*, los ancilostómidos (miembros de la familia Ancylostomatidae), *Toxocara canis* y *Trichuris vulpis*. Se indican en un grupo aparte a una serie de larvas de nematodos que no pudimos identificar.

Tal como podemos ver en las imágenes anteriores, algunos de los huevos de los ancilostomátidos y *Toxocara* fueron capaces de embrionarse. En el caso de los primeros, en condiciones de humedad y temperatura son capaces de embrionar en un

día o menos. Las condiciones climáticas de la provincia de estudio pudieron facilitar que esto se produjera, antes de añadir el fijador correspondiente.

Para no deteriorar los parásitos y poder utilizar las muestras en la IFD, se utilizó como fijador SS-Formol al 5%. Aunque las muestras se procesaron rápidamente, el análisis al microscopio fue más lento, los huevos de *Toxocara* necesitan unas 3 semanas para embrionarse, sin embargo son muy resistentes y es posible que el fijador no fuera suficiente para limitar la viabilidad de los huevos.

Por otro lado la identificación de *Strongyloides* se realizó mediante una PCR a tiempo real y *Giardia/Cryptosporidium* mediante IFD que presenta una sensibilidad muy superior a la microscopia óptica.

**Tabla 12. Especies parasitarias identificadas y frecuencia de aparición global (n=348)**

<b>Parásito</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>	<b>Frecuencia relativa (expresado en %)</b>
<i>Giardia intestinalis</i>	127	36,49%
Ancylostomatidae	75	21,55 %
<i>Toxocara canis</i>	33	9,48 %
<i>Trichuris vulpis</i>	24	6,90 %
Larva de Nematoda	23	6,61 %
<i>Entamoeba coli</i>	20	5,75 %
<i>Toxascaris leonina</i>	16	4,60 %
<i>Cryptosporidium</i> sp.	16	4,60 %
<i>Cystoisospora</i> sp.	14	4,02 %
<i>Neospora canis</i>	10	2,87 %
<i>Dipylidium caninum</i>	8	2,30 %
Taeniidae	4	1,15 %
<i>Strongyloides</i> sp.	4	1,15 %
<i>Blastocystis hominis</i>	4	1,15 %
<i>Physaloptera</i> sp.	2	0,57 %
<i>Hymenolepis nana</i>	1	0,29 %
<b>Prevalencia global</b>	<b>223</b>	<b>64,08 %</b>

### 2.3.2. Frecuencia de aparición según la aptitud de los perros

En las tablas 13 a 17 se muestran las frecuencias de aparición de cada especie en función del estatus, procedencia o aptitud del perro.

**Tabla 13. Especies parasitarias identificadas y frecuencia de aparición en perros domésticos (n=14).**

Parásito	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
<i>Giardia intestinalis</i>	5	35,71 %
<i>Cryptosporidium</i> sp.	3	21,43 %
<i>Entamoeba coli</i>	2	14,29 %
Larva de Nematoda	1	7,14 %
<b>Prevalencia total</b>	<b>7</b>	<b>50 %</b>

En la tabla 13 se refleja que, a pesar de tratarse de perros domésticos, el 50% los mismos poseían, al menos, un parásito.

**Tabla 14. Especies parasitarias descritas y frecuencia de aparición en perros destinados a la cría de razas de interés (n=24).**

Parásito	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
<i>Giardia intestinalis</i>	11	45,83 %
<i>Toxocara canis</i>	2	8,33 %
Ancylostomatidae	1	4,17 %
<i>Strongyloides</i> sp.	1	4,17 %
<i>Cryptosporidium</i> sp.	1	4,17 %
<b>Prevalencia total</b>	<b>14</b>	<b>58,33 %</b>

En la misma línea de lo descrito anteriormente, más del 50% de estos animales estaban infectados. Estos animales proceden de la residencia R1, (que también tiene actividad como criadero de perros de raza) reciben cuidados especiales y están aislados del resto de los animales que entran en el albergue recogidos de la calle. Además, según se nos indicó, reciben cuidados periódicos de personal veterinario y tratamiento anti-parasitario cuando es necesario.

De nuevo *Giardia* es el parásito más frecuentemente encontrado. Sin embargo, debemos remarcar la presencia de *Toxocara*, posiblemente presente porque eran cachorros y en general la prevalencia en ellos suele ser muy elevada. La presencia de *Strongyloides* es aún más llamativa, aunque solo se detectó en un animal.

**Tabla 15. Especies parasitarias detectadas y frecuencia de aparición en perros pastores de ovejas (n=24).**

<b>Parásito</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>	<b>Frecuencia relativa</b>
Ancylostomatidae	12	50 %
<i>Giardia intestinalis</i>	9	37,50 %
Larva de Nematoda	7	29,17 %
<i>Toxascaris leonina</i>	6	25 %
<i>Cystoisospora</i> sp.	6	25 %
<i>Trichuris vulpis</i>	5	20,83 %
<i>Entamoeba coli</i>	5	20,83 %
<i>Toxocara canis</i>	4	16,67 %
<i>Neospora canis</i>	3	12,50 %
<i>Physaloptera</i> sp.	2	8,33 %
<i>Dipylidium caninum</i>	1	4,17 %
<i>Strongyloides</i> sp.	1	4,17 %
<b>Prevalencia total</b>	<b>22</b>	<b>91,66 %</b>

En relación a los perros pastores de ovejas, el 75% del total de especies encontradas, las podemos observar en estos animales. Además de ello, más del 90% de estos canes estaban parasitados. Las especies mayoritarias son, en este caso, uncinarias, *Giardia* y larvas de nematodos.

En las tablas 16 y 17, se muestran los parásitos hallados en perros cazadores y perros abandonados respectivamente.

**Tabla 16. Especies parasitarias identificadas y frecuencia de aparición en perros destinados a la caza mayor del jabalí (n=68).**

<b>Parásito</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>	<b>Frecuencia relativa</b>
Ancylostomatidae	52	76,47 %
<i>Giardia intestinalis</i>	14	20,59 %
<i>Trichuris vulpis</i>	9	13,23 %
Larva de Nematoda	6	8,82 %
<i>Toxocara canis</i>	5	7,35 %
<i>Cryptosporidium</i> sp.	4	5,88 %
Taeniidae	2	2,94 %
<i>Strongyloides</i> sp.	1	1,47 %
<i>Entamoeba coli</i>	1	1,47 %
<b>Prevalencia total</b>	<b>58</b>	<b>85,29 %</b>

Como se puede observar en la tabla, hay una elevada tasa de aparición de uncinarias (ancilostómidos) seguida por *Giardia intestinalis*, como segundo parásito más prevalente.

Perros de caza y perros ovejeros son los que presentan prevalencias más elevadas, posiblemente debido a que recibían escasos cuidados por parte de sus dueños. No son considerados como mascotas, sino como animales de trabajo y los dueños tratan de reducir al máximo los gastos que puedan suponer estos animales en comida y en asistencia al veterinario.

**Tabla 17. Especies parasitarias descritas y frecuencia de aparición en perros abandonados (218)**

<b>Parásito</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>	<b>Frecuencia relativa</b>
<i>Giardia intestinalis</i>	88	40,37 %
<i>Toxocara canis</i>	22	10,09 %
<i>Entamoeba coli</i>	12	5,50 %
Ancylostomatidae	10	4,59 %
<i>Trichuris vulpis</i>	10	4,59 %
<i>Toxascaris leonina</i>	10	4,59 %
Larva de Nematoda	9	4,13 %
<i>Cryptosporidium</i> sp.	8	3,67 %
<i>Cystoisospora</i> sp.	8	3,67 %
<i>Dipylidium caninum</i>	7	3,21 %
<i>Neospora canis</i>	7	3,21 %
<i>Blastocystis hominis</i>	4	1,83 %
Taeniidae	2	0,92 %
<i>Strongyloides</i> sp.	1	0,46 %
<i>Hymenolepis nana</i>	1	0,46 %
<b>Prevalencia total</b>	<b>122</b>	<b>55,96 %</b>

En el grupo de perros abandonados se ha detectado el mayor número de especies parasitarias (15 de los 16 totales). Nuevamente uno de los parásitos más prevalente es *Giardia*, seguido por *Toxocara*. Debemos remarcar la presencia de *Strongyloides*, que también aparecía en los perros de cría, que estaban alojados en una de las residencias. Si bien, no era el objetivo de este trabajo, a tenor de los resultados, sería interesante tomar muestras de la arena de esta residencia para detectar la presencia de este parásito. Debemos recordar que las benignas condiciones climáticas de la provincia favorecería la supervivencia de las larvas en el medio.

### 2.3.3. Frecuencia de aparición según la procedencia geográfica de los perros

En las tablas 18-23, se muestran las frecuencias de aparición de cada especie parasitaria distribuida según la comarca de origen del perro. La provincia de Castellón está compuesta por 8 comarcas, 6 de las cuales están representadas en estas tablas.

**Tabla 18. Especies parasitarias detectadas y frecuencia de aparición en la comarca del Alcaatén (n=5)**

Parásito	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
<i>Giardia intestinalis</i>	4	80 %
<i>Cryptosporidium</i> sp.	1	20 %
<b>Prevalencia total</b>	<b>4</b>	<b>80 %</b>

En esta comarca situada en el centro de la provincia de Castellón sólo se han examinado 5 muestras, de las cuales 4 presentaban parásitos. Cuatro de ellas presentaban *Giardia* y una de éstas mostraba una coinfección con *Cryptosporidium* sp.

**Tabla 19. Especies parasitarias identificadas y frecuencia de aparición en la comarca del Alto Palancia (n=10)**

Parásito	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
<i>Giardia intestinalis</i>	4	40 %
Larva de Nematoda	3	30 %
<i>Toxascaris leonina</i>	2	20 %
Ancylostomatidae	1	10 %
<i>Physaloptera</i> sp.	1	10 %
<i>Cystoisospora</i> sp.	1	10 %
<i>Neospora canis</i>	1	10 %
<i>Entamoeba coli</i>	1	10 %
<b>Prevalencia total</b>	<b>5</b>	<b>50 %</b>

En el Alto Palancia, comarca situada al suroeste de la provincia, se han tomado 10 muestras encontrándose parásitos en 5 de ellas. Como en anteriores ocasiones, la especie más común fue *G. intestinalis*.



**Tabla 20. Especies parasitarias identificadas y frecuencia de aparición en la comarca del Alto Maestrazgo (n=12)**

<b>Parásito</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>	<b>Frecuencia relativa</b>
Ancylostomatidae	8	66,66 %
<i>Toxascaris leonina</i>	5	41,66 %
<i>Trichuris vulpis</i>	4	33,33 %
<i>Entamoeba coli</i>	3	25 %
<i>Giardia intestinalis</i>	2	16,66 %
Larva de Nematoda	2	16,66 %
<i>Toxocara canis</i>	1	8,33 %
<i>Physaloptera</i> sp.	1	8,33 %
<i>Strongyloides</i> sp.	1	8,33 %
<i>Neospora canis</i>	1	8,33 %
<b>Prevalencia total</b>	<b>11</b>	<b>91,66 %</b>

En la comarca del Alto Maestrazgo, al oeste de la provincia, encontramos un gran número de parásitos distintos, encabezados por los miembros de la familia de los ancilostómidos y seguido por *Toxascaris leonina*.

**Tabla 21. Especies parasitarias descritas y frecuencia de aparición en la comarca del Bajo Maestrazgo (n=175)**

<b>Parásito</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>	<b>Frecuencia relativa</b>
<i>Giardia intestinalis</i>	73	41,71 %
Ancylostomatidae	61	34,86 %
<i>Toxocara canis</i>	17	9,71 %
<i>Trichuris vulpis</i>	11	6,29 %
Larva de Nematoda	11	6,29 %
<i>Cryptosporidium</i> sp.	10	5,71 %
<i>Cystoisospora</i> sp.	8	4,57 %
<i>Entamoeba coli</i>	5	2,86 %
Taeniidae	3	1,71 %
<i>Strongyloides</i> sp.	3	1,71 %
<i>Dipylidium caninum</i>	2	1,14 %
<i>Blastocystis hominis</i>	2	1,14 %
<i>Toxascaris leonina</i>	1	0,57 %
<i>Neospora canis</i>	1	0,57 %
<i>Hymenolepis nana</i>	1	0,57 %
<b>Prevalencia total</b>	<b>131</b>	<b>74,86 %</b>

En la comarca del Bajo Maestrazgo, al noreste de la provincia, se obtuvieron 175 muestras y apareciendo 15 especies parasitarias distintas. Dominan por su prevalencia, *Giardia* y los ancilostómidos. Además, cabe destacar la presencia del cestodo *Hymenolepis nana* y la detección de 3 muestras con huevos de taenidos.

**Tabla 22. Especies parasitarias descritas y frecuencia de aparición en la comarca de la Plana Baja (n=45)**

<b>Parásito</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>	<b>Frecuencia relativa</b>
<i>Giardia intestinalis</i>	14	31,11 %
<i>Toxocara canis</i>	5	11,11 %
<i>Entamoeba coli</i>	5	11,11 %
<i>Cryptosporidium</i> sp.	3	6,66 %
<i>Trichuris vulpis</i>	2	4,44 %
<i>Toxascaris leonina</i>	2	4,44 %
Larva de Nematoda	2	4,44 %
<i>Cystoisospora</i> sp.	2	4,44 %
Ancylostomatidae	1	2,22 %
<i>Dipylidium caninum</i>	1	2,22 %
<i>Blastocystis hominis</i>	1	2,22 %
<b>Prevalencia total</b>	<b>21</b>	<b>46,66 %</b>

En esta comarca situada al sureste de la provincia destaca de nuevo *G. intestinalis* como parásito más comúnmente encontrado. El resto aparecen casi de manera anecdótica.

**Tabla 23. Especies parasitarias identificadas y frecuencia de aparición en la comarca de la Plana Alta (n=101)**

<b>Parásito</b>	<b>Frecuencia absoluta</b>	<b>Frecuencia relativa</b>
<i>Giardia intestinalis</i>	30	29,70 %
<i>Toxocara canis</i>	10	9,90 %
<i>Trichuris vulpis</i>	7	6,93 %
<i>Neospora canis</i>	7	6,93 %
<i>Toxascaris leonina</i>	6	5,94 %
<i>Entamoeba coli</i>	6	5,94 %
<i>Dipylidium caninum</i>	5	4,95 %
Larva de Nematoda	5	4,95 %
Ancylostomatidae	4	3,96 %
<i>Cystoisospora</i> sp.	3	2,97 %
<i>Cryptosporidium</i> sp.	2	1,98 %
Taeniidae	1	0,99 %
<i>Blastocystis hominis</i>	1	0,99 %
<b>Prevalencia total</b>	<b>51</b>	<b>50,49 %</b>

En la Plana Alta, comarca situada al este de la provincia, se detectó un elevado número de especies parasitarias, entre las que destacan *G. intestinalis* y *T. canis*, por su mayor prevalencia. Además, se ha encontrado una muestra positiva para huevos de Taeniidae.

#### **2.3.4. Análisis estadístico de las frecuencias de parasitación**

En la tabla 24 se muestran los resultados de parasitación de los perros en función de las variables sexo, estatus y origen. Del análisis estadístico se desprende que las variables “estatus o tipo de tenencia” y “origen” están significativamente asociadas con la parasitación del perro.

**Tabla 24. Características de las 348 muestras de heces correspondientes a los perros estudiados en el área geográfica de la provincia de Castellón**

Características	Número	N		%parasitación	$\chi^2$	gl	p
		Negativos	Positivos				
<b>Sexo</b>	Macho	158	69	89	2,877	1	0,0899
	Hembra	119	40	79			
	Mezcla*	38	12	26			
	Desconocido	33	4	29			
<b>Estatus</b>	Domésticos	14	7	7	29,020	4	<0,0001
	De criadero	24	10	14			
	De caza	68	10	58			
	Pastores	24	2	22			
	Abandonados	218	96	122			
<b>Comarca origen</b>	Alcalatén	5	1	4	16,580**	3	0,0009
	Alto Palancia	10	5	5			
	Alto Maestrazgo	12	1	11			
	Bajo Maestrazgo	175	44	131			
	Plana Baja	45	24	21			
	Plana Alta	101	41	60			

gl: grados de libertad.\* Dado que en las residencias caninas suele haber más perros que jaulas, algunas muestras corresponden a más de un perro, pudiendo éste ser macho o hembra.\*\*Se consideran únicamente para el cálculo aquellas comarcas con una frecuencia de aparición de negativos/positivos  $\geq 5$ .

### 2.3.5. Análisis de los parásitos con potencial zoonótico

Aunque se identificaron 16 especies parasitarias en total, no todas ellas son capaces de desarrollar una patología en el ser humano. En la Tabla 25 se distribuyen las especies detectadas según su potencial zoonótico.

**Tabla 25. Distribución de las especies identificadas según su capacidad infectiva para el ser humano.**

Especies zoonóticas	Especies no zoonóticas	Otros hallazgos
<i>Toxocara canis</i>	<i>Trichuris vulpis</i>	<i>Hymenolepis nana</i> <sup>3</sup>
Ancylostomatidae <sup>1</sup>	<i>Toxascaris leonina</i>	<i>Entamoeba coli</i> <sup>4</sup>
<i>Strongyloides</i> sp.	<i>Physaloptera</i> sp.	Larva de Nematoda <sup>5</sup>
Taeniidae <sup>2</sup>	<i>Cystoisospora</i> sp.	
<i>Dipylidium caninum</i>	<i>Neospora canis</i>	
<i>Giardia intestinalis</i>		
<i>Cryptosporidium</i> sp.		
<i>Blastocystis hominis</i>		

<sup>1</sup> Esta familia de nematodos engloba dos especies que afectan al perro en nuestra área geográfica: *Ancylostoma caninum* y *Uncinaria stenocephala*. Los huevos de ambas especies son difíciles de diferenciar al microscopio, presentan un tamaño similar, solo se pueden diferenciar por la forma de los blastómeros, que en *Uncinaria* son más grandes.

<sup>2</sup> Esta familia de cestodos engloba dos géneros que afectan al perro: *Taenia* y *Echinococcus*. Los huevos de ambos géneros son indistinguibles al microscopio.

<sup>3</sup> A pesar de que sí que es cierto que *H. nana* es zoonótico y afecta principalmente a niños, se trata de un parásito más propio de ratones, ratas y otros roedores, que de perros. Consideramos pues que ha sido un hallazgo fortuito debido a un parasitismo espúreo a consecuencia posiblemente de la depredación de un ratón por parte de un perro.

<sup>4</sup> Aunque *E. coli* también está presente en el hombre, no es un parásito sino un comensal del intestino.

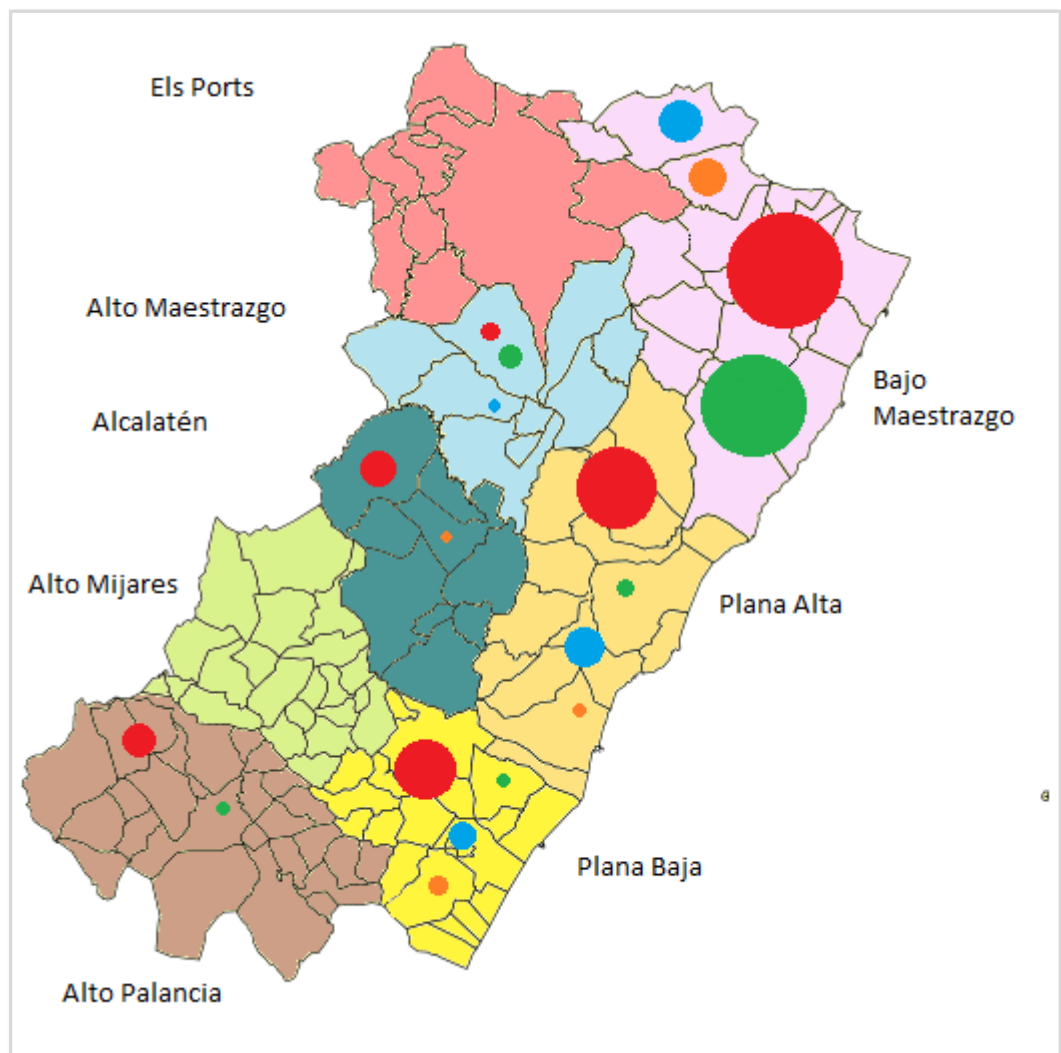
<sup>5</sup> Al no haberse determinado a qué familia ni a qué especie corresponden las larvas encontradas, no puede precisarse su capacidad infectiva para el ser humano.

En la tabla 26 se desglosan las muestras positivas para *Toxocara*, según hayan sido excretadas por machos o hembras, debemos recordar que las hembras son las responsables de la transmisión a los cachorros por vía transplacentaria o transmamaria.

**Tabla 26. Relación del nematodo *Toxocara canis* con el sexo de los perros.**

Frecuencia absoluta <i>T. canis</i>	Hembras	Machos	Sexo desconocido
33	11	10	12

En la figura 44, se muestra la distribución por comarcas de las principales especies zoonóticas halladas en este estudio.



**Figura 44.** Distribución y frecuencia relativa por comarcas, de las especies de enteroparásitos zoonóticos más prevalentes en la provincia de Castellón. El tamaño de los círculos refiere a porcentaje de muestras positivas sobre el total de muestras analizadas en esa comarca. Los colores indican: (●) *G. intestinalis*; (●) Familia Ancylostomatidae; (●) *Toxocara canis*; (●) *Cryptosporidium sp.*

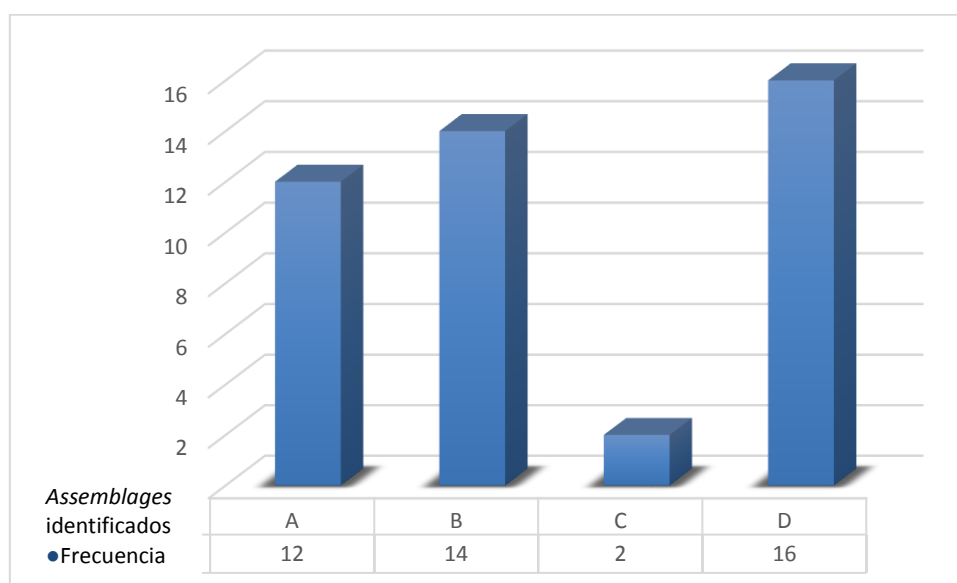
## 2.4. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *GIARDIA INTESTINALIS*

### 2.4.1. Identificación de *assemblages* y subassemblages

Aunque de forma general hemos considerado a *Giardia intestinalis* como parásito zoonótico, no todas las genovariedades o *assemblages* lo son. En el perro las genovariedades propias son la C y la D, mientras que en los humanos son A y B.

La prevalencia de este parásito era la más elevada, de un 36,49%, sin embargo, su caracterización molecular es fundamental para poder valorar su potencial zoonótico real. Mediante IFD se habían identificado 127 muestras, sin embargo por PCR solo se pudieron confirmar 103 y únicamente fue posible de genotipar 35 de ellas.

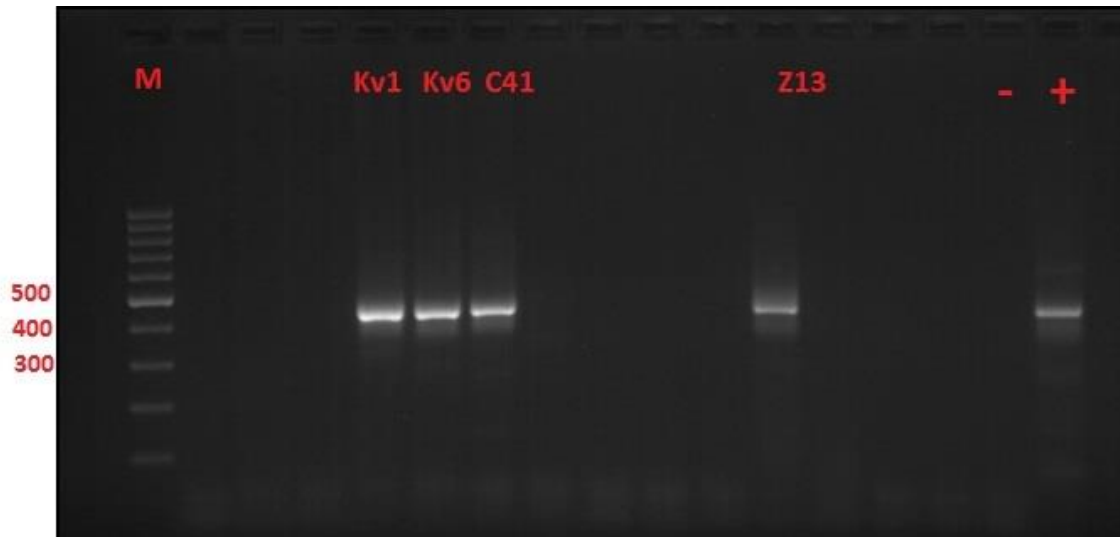
Los resultados se muestran en la figura 45, donde se muestran las cuatro genovariedades (*assemblages*) encontradas en las muestras positivas para *Giardia intestinalis*. En el eje de las abscisas se representan los *assemblages* encontrados y en el de las ordenadas, su frecuencia de aparición.



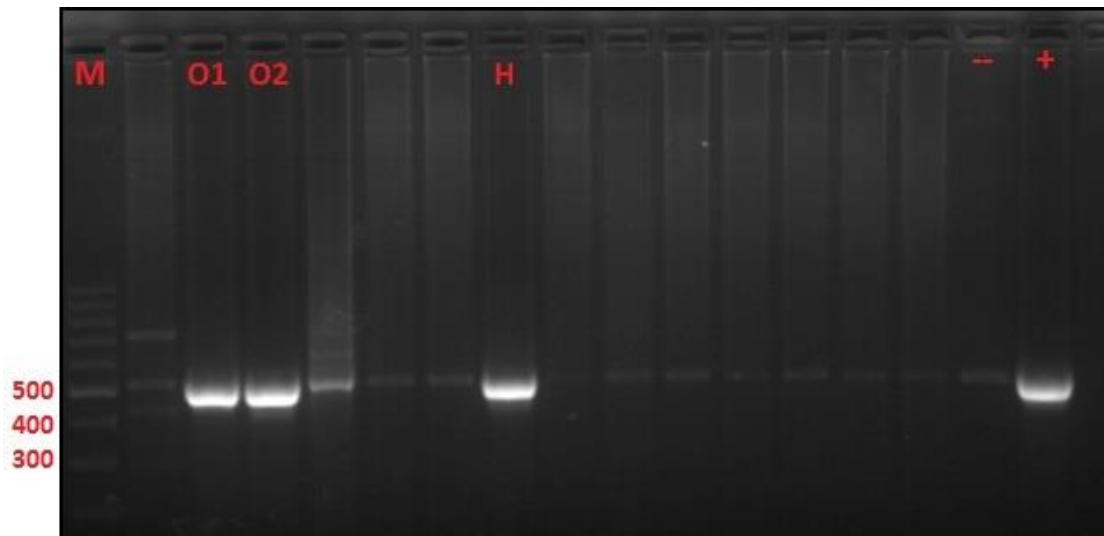
**Figura 45.** *Assemblages* de *Giardia intestinalis* identificados (n=44\*)

En las figuras 46 y 47, se muestran ejemplos de aislados representativos de *G. intestinalis* amplificados mediante *gdh*-PCR y *bg*-PCR en el presente estudio.





**Figura 46.** Gel de agarosa al 2% mostrando cuatro aislados representativos de *Giardia intestinalis* parcialmente amplificados en el gen *gdh*. M: marcador de PM; Kv1, Kv6 y C41 corresponden a muestras procedentes de perros abandonados o extraviados situados, en el momento del estudio, en residencias caninas. Por su parte, Z13 corresponde a la muestra de un perro cazador de jabalíes. A la derecha se muestran los controles negativo (-) y positivo (+).



**Figura 47.** Gel de agarosa al 2% mostrando tres aislados representativos de *Giardia intestinalis* parcialmente amplificados en el gen *bg*. M: marcador de PM; O1 y O2 son muestras procedentes de perros pastores de ovejas y H es una muestra de un perro destinado a la cría y comercio. A la derecha se muestran los controles negativo (-) y positivo (+).

En la tabla 27 se muestran los *sub-assemblages* de *Giardia* que pudieron caracterizarse y en la tabla 28 las infecciones mixtas encontradas, así como su frecuencia de aparición.

**Tabla 27. Frecuencia de los assemblages/sub-assemblages de *Giardia intestinalis* identificados**

<i>Assemblage</i>	<i>Sub-assemblage</i>	Frecuencia absoluta
A*	AII	9
	AIII	2
B**	BIII	7
	BIV	5

\*De las 12 muestras de *G. intestinalis* positivas para el *assemblage* A, sólo se pudo determinar el *sub-assemblage* de 11 de ellas.

\*\*De las 15 muestras de *G. intestinalis* positivas para el *assemblage* B, sólo se pudo determinar el *sub-assemblage* de 12 de ellas.

**Tabla 28. Infecciones mixtas de *G. intestinalis* descritas en la población canina estudiada.**

Combinación genotípica hallada	Frecuencia absoluta
A + B + D	1
AII + B	1
AII + BIII	2
AII + BIV	1
AII + D	1
AIII + BIV + D	1
BIII + BIV	1

En las tablas 29 y 30 se detallan las características moleculares de los aislados de *G. intestinalis* determinados, usando como marcadores el gen *gdh* y el gen *bg*, respectivamente.

**Tabla 29. Diversidad, frecuencia y características moleculares de los aislados de *Giardia intestinalis* caracterizados usando como marcador el gen *gdh* en poblaciones caninas de la provincia de Castellón, España, 2014–2016.**

<i>Assemblage</i>	<i>Sub-assemblage</i>	Nº aislado	Ref.*	Fragmento (pb)	Polimorfismo de nucleótido único
A	All	B35	L40510	63-496	C63T, A175R, A271R
		K34p	L40510	63-496	C63T, C198T
B	BIII	O7	AF069059	54-455	C87T, G93R, T95Y, C99Y, T147Y, G150R, T230Y, G277R, C309T
		K8p	AF069059	54-455	C87T, T138Y, T147Y, T219Y, T237Y, C309Y, C330Y, G354A, G372R, T382K, G406R, A414R, G444R
		K42p	AF069059	44-455	C87Y, C99Y, T147Y, G189R, C309T, G354R, G406R
	BIV	Ki7	L40508	109-476	C133A, T464Y
		B42	L40508	109-476	T183Y, T248Y, A350R, T387Y, C423Y, A476R
C	-	Ki16	U60984	78-490	No
D	-	A17k	U60986	80-481	No
	-	A21k	U60986	80-481	G225R, T429C, G441A,
	-	Ki9	U60986	80-481	T240C
	-	B16	U60986	80-481	T240C, C375T
	-	KiG	U60986	80-481	T240C, T459W
	-	Ki13	U60986	80-481	T240Y, T429Y, G441R
	-	Ki1	U60986	80-481	T240C, T429C, G441A, T459A
	-	Ki4	U60986	80-481	T240C, T429C, G441A, T459A
	-	A12k	U60986	80-481	T240C, T429C, G441A, T459A
	-	B19	U60986	80-481	C375Y
	-	Kv1	U60986	80-481	C375T
	-	B32	U60986	80-481	T429C, G441A
	-	Ki14	U60986	80-481	T429C, G441A
	-	A32k	U60986	80-481	T429C, G441A, C471Y

K: G/T; R: A/G; W: A/T; Y: C/T.

\*Se indican los números de acceso a GenBank de las secuencias de referencia usadas.

**Tabla 30. Diversidad, frecuencia y características moleculares de los aislados de *Giardia intestinalis* caracterizados usando como marcador el gen *bg* en poblaciones caninas de la provincia de Castellón, España, 2014–2016.**

<i>Assemblage</i>	<i>Sub-assemblage</i>	Nº aislado	Ref.*	Fragmento (pb)	Polimorfismo de nucleótido simple
A	AII	B3	AY072723	138-587	T187Y
		B15	AY072723	138-587	A227R, G434A
		B19	AY072723	138-587	C231T, A269G, T275G, C282T, A529G
		B23	AY072723	138-587	G261A, G277A, T329A, T564C
		K34p	AY072723	138-587	T390Y
		B42	AY072723	138-587	Sin definir
		B46	AY072723	138-587	Sin definir
B	AIII	O3	AY072724	103-590	A125R, C414Y, T558Y
		KiH	AY072727	104-590	G159A, C165T, C309T, C324T, C393T, T471C
C	-	K30p	AY072727	104-590	C348T, C504Y, T557A
		A6	AY545646	11-500	G37A, C451T
D	-	Ki9	AY545647	105-590	No
		C13	AY545647	105-590	G129A, A201G, C207A, A455R
		Ki13	AY545647	105-590	A201G, C207Y

R: A/G; Y: C/T.

\*Se indican los números de acceso a GenBank de las secuencias de referencia usadas.

En la tabla 31, se presenta el número de muestras positivas para *G. intestinalis* dependiendo de la técnica utilizada para su detección.

**Tabla 31. Muestras positivas para *G. intestinalis* según la técnica de detección utilizada. (n=127)**

	IFD (+)/qPCR (+)	IFD (+)/ qPCR (-)	IFD (-)/ qPCR (+) <sup>1</sup>
<b>N</b>	97	24	6

IFD: Inmunofluorescencia Directa. PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

<sup>1</sup> muestras negativas mediante IFD pero positivas al examen microscópico convencional

En la tabla 32, se indican los assamblages y sub-assamblages según la aptitud del animal y la correspondiente frecuencia.

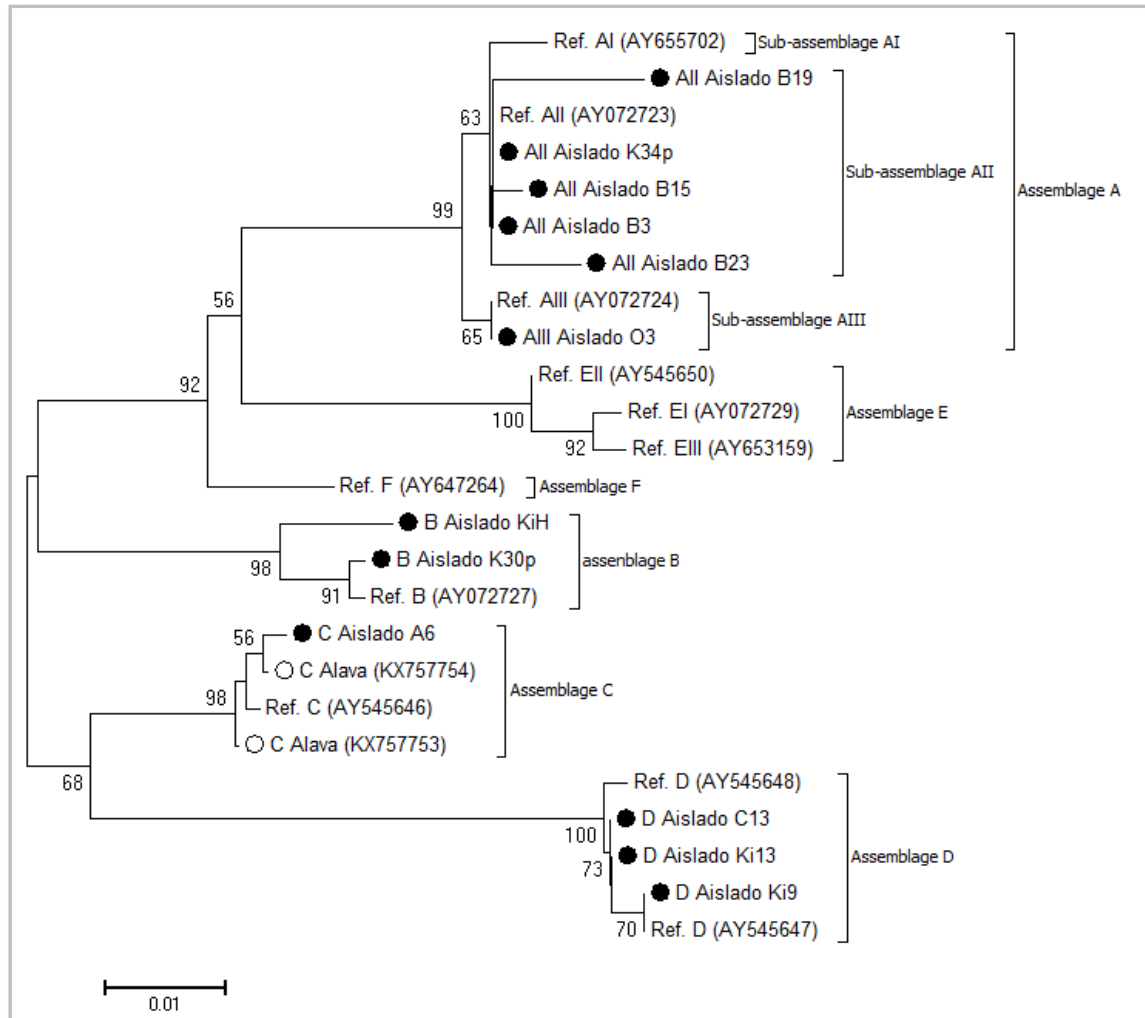
**Tabla 32. Frecuencia de los assambages/sub-assamblages de *Giardia intestinalis* según la aptitud del animal**

Aptitud animal	Assambage/sub-assamblage	Frecuencia
<b>Albergue</b>	AII	1
	BIII	1
	BIV	1
	BIII+BIV	1
	C	2
	D	11
<b>Cria</b>	AII+B	1
	AIII+BIV+D	1
	A+B+D	1
	B	1
<b>Dueño</b>	-	-
<b>Ovejeros</b>	AII	1
	BIII	1
	BIV	1
<b>De caza</b>	A II	3
	BIII	1
	AII+BIII	2
	AII+BIV	1
	AII+D	1
	D	2

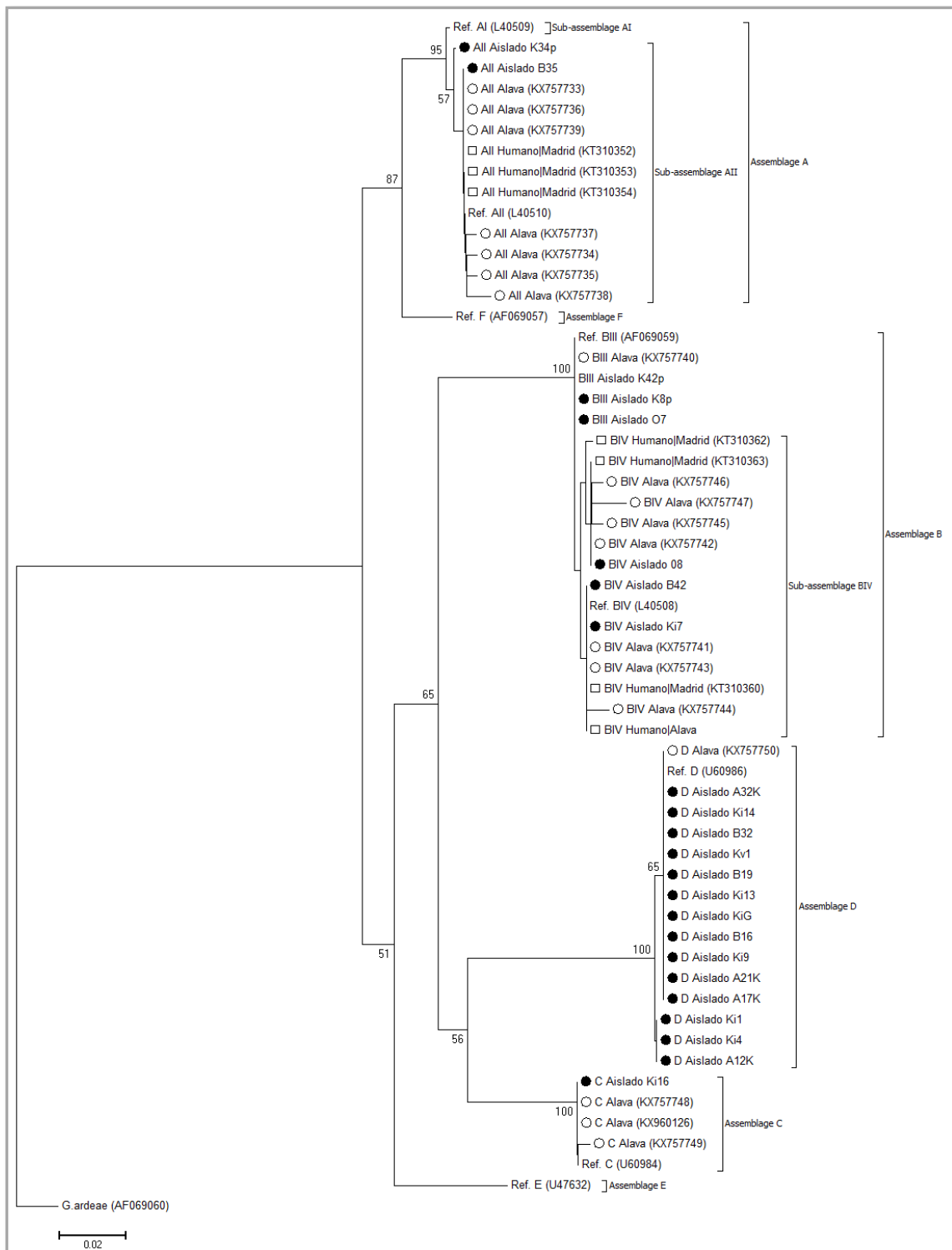
Los perros de albergue presentan más frecuentemente *assamblages* propias de canidos (C y D). Cabe destacar los datos obtenidos en los perros de cría y de caza donde preferentemente aparecen las *assamblages* A y B, presentando además una gran variedad de *sub-assamblages* y de combinaciones de las mismas.

### 2.4.2. Estudios filogenéticos

Seguidamente, en las figuras 48 y 49, se muestran los estudios filogenéticos de las secuencias obtenidas usando los genes *bg* y *gdh* como marcadores, realizados a las muestras positivas para *G. intestinalis*, para relacionarlos con otras cepas de *Giardia* circulantes en nuestro país, tanto en muestras humanas, como en muestras caninas.



**Figura 48.** Estudio filogenético de los aislados de *Giardia intestinalis* a partir de las secuencias obtenidas usando como marcador el gen *bg*. Se incluyen también, para compararlas, secuencias de diferentes *asemblages* y *sub-asemblages* (tanto humanos como caninos) de estudios previos realizados en el ISCIII (Madrid).



**Figura 49.** Estudio filogenético de los aislados de *Giardia intestinalis* a partir de las secuencias obtenidas usando como marcador el gen *gdh*. Se incluyen también, para compararlas, secuencias de diferentes *assemblages* y *sub-assemblages* (tanto humanos como caninos) de estudios previos realizados en el ISCIII (Madrid)

En España existen pocos estudios que analicen desde el punto de molecular los aislados de *Giardia intestinalis* encontrados en mascotas. En las Figuras 48 y 49 se han establecido las relaciones filogenéticas entre las secuencias generadas en el presente estudio y las de aislados caninos documentados en España en estudios moleculares previos (Gil *et al.*, 2017; de Lucio *et al.*, 2017)

Cuando analizamos los resultados de las secuencias obtenidas a partir del gen *bg* (Tabla 29), observamos que de las siete muestras identificadas como pertenecientes al *sub-assembly* All, cinco presentaban entre uno y cinco polimorfismos en la secuencia nucleotídica analizada, mientras que en las dos restantes, esta información no pudo ser constatada debido a la baja calidad de las secuencias correspondientes. El análisis filogenético demostró que todas las secuencias All obtenidas formaban, junto con la secuencia de referencia AY072723, un subgrupo específico en la que los aislados B15 y B23 presentaban la mayor distancia genética. Los únicos aislados identificados como *sub-assembly* AIII y *assembly* B mostraban tres y seis polimorfismos con respecto a sus respectivas secuencias de referencia (Tabla 29), formando clados bien definidos en el árbol filogenético (Fig. 48). Entre los aislados asignados al *assembly* C, el aislado A6 presenta similitudes con el aislado de Álava KX757754, pero difiere genéticamente tanto de la secuencia de referencia como del resto de aislados contemplados en el análisis, aunque sólo presenta dos polimorfismos (Tabla 29). De las tres muestras identificadas como *assembly* D, una era idéntica a la secuencia de referencia AY545648, mientras que las dos restantes, diferían de ella entre dos y cuatro polimorfismos (Tabla 29).

En el caso del gen *gdh* (Fig. 49), todos los aislados caninos de Castellón agrupados en el *assembly* D mostraron una gran diversidad en sus secuencias nucleotídicas, difiriendo entre uno y cuatro polimorfismos (Tabla 30). Sin embargo, las distancias genéticas entre estas secuencias son muy escasas, como demuestra la reducida longitud de las ramas del árbol filogenético que conforman el clado (Fig. 48). Este hecho sugiere que el tiempo de divergencia evolutiva transcurrido debe de haber sido necesariamente breve. Es destacable también la elevada diversidad nucleotídica observada en los aislados identificados como *assemblies* BIII y BIV, en los que hasta 13 posiciones mostraron ambigüedades en sus secuencias nucleotídicas cuando fueron comparadas con sus respectivas secuencias de referencia (Tabla 29). Este hecho queda claramente



reflejado en la relativa complejidad de la estructura del árbol filogenético generado, con aparición de varios subgrupos dentro del clado BIV. En cualquier caso, las distancias genéticas entre los aislados obtenidos en Castellón y los obtenidos en Álava eran mínimos.

## **2.5. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *CRYPTOSPORIDIUM SP***

La prevalencia global para este parásito se determinó mediante IFD y fue del 4,60%. Esta técnica es altamente específica y sensible. Siendo el grupo con mayor frecuencia de aparición el de los perros de compañía. No detectándose este parásito en el grupo de perros ovejeros. Sin embargo, no fue posible conseguir la caracterización molecular de estas muestras.



**CAPITULO II. Estudio sobre el  
impacto socioeconómico de  
los casos humanos que  
producen los parásitos  
intestinales caninos en la  
provincia de Castellón**

---



# 1. MATERIAL Y MÉTODOS

## 1.1. CÁLCULO DE LA INCIDENCIA ANUAL

Para la estimación del impacto socioeconómico de las zoonosis parasitarias en la región, se tomaron como referencia aquellas que en la actualidad son de notificación obligatoria, hidatidosis, giardiosis y criptosporidiosis. A continuación, se detallan los componentes principales de esta fase del estudio.

Se estimó la incidencia anual de casos humanos en el país y en la región, de aquellas zoonosis parasitarias de notificación obligatoria en la Comunidad Valenciana y cuyas formas infectantes fueron halladas en las heces caninas estudiadas, giardiosis y criptosporidiosis. El número oficial de casos notificados fue obtenido a partir de los Informes Epidemiológicos Anuales (IEA) y los Boletines Epidemiológicos Semanales (BES) de la Red de Vigilancia Epidemiológica, coordinada por el Instituto de Salud Carlos III (<http://www.isciii.es/>) para el periodo 2005-2014 a escala nacional; y del Boletín Epidemiológico Semanal de la *Conselleria de Sanitat Universal i Salut Pública* de la Comunidad Valenciana (<http://www.san.gva.es/>) para el mismo periodo 2005-2014 en el caso de hidatidosis y solamente para el año 2014 en los casos de giardiosis y criptosporidiosis. Esto último es debido a que a partir de ese año se consideraron ambas enfermedades como de notificación obligatoria, y por tanto no existen datos previos. La tasa de incidencia anual, nacional y comunitaria por 100.000 habitantes, fue calculada dividiendo el número total de casos notificados en cada año entre el total de población estimada a 31 de diciembre para dicho año y luego multiplicado por 100.000. Los datos de población para cada año se obtuvieron de la base de datos sobre Demografía y Población / Cifras de Población y Censos Demográficos (<http://www.ine.es/>).

## 1.2. EVALUACIÓN ECONÓMICA Y LA DETERMINACIÓN DE CARGA DE ENFERMEDAD

Para la evaluación económica y la determinación de carga de enfermedad, se consideraron datos epidemiológicos y parámetros de manejo clínico y se siguieron las recomendaciones metodológicas para la estimación de la utilización de recursos y costes de Puig Jenoy *et al.* (2014) para la realización y presentación de evaluaciones económicas y análisis de impacto presupuestario de medicamentos.

Para la hidatidosis, los datos de manejo clínico se obtuvieron de la literatura, a partir de un estudio previo llevado a cabo en la provincia de Castellón sobre esta parasitosis (Moreno *et al.*, 2009), y de reportes de la Organización Mundial de la Salud, para el caso de giardiosis y criptosporidiosis. Los costes económicos considerados para la evaluación económica correspondieron a:

-Directos: relacionados con la atención sanitaria del paciente y derivados de procedimientos diagnósticos, terapéuticos (quirúrgicos y farmacológicos), de visita médica inicial, y seguimiento ambulatorio del paciente. Los datos sobre valores y tasas de los procedimientos diagnósticos, clínicos y terapéuticos se obtuvieron del Decreto Legislativo 1/2005, de 25 de Febrero, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley De Tasas de la Generalitat actualizado al ejercicio fiscal 2015 y la Ley 7/2014, de 22 de diciembre, de Medidas Fiscales, de Gestión Administrativa y Financiera, y de Organización de la Generalitat Valenciana.

-Indirectos: derivados de la pérdida de productividad. De acuerdo con Carabin *et al.*, 2014 se consideró que los pacientes con hidatidosis pierden un 4% de su tiempo de productividad debido a la enfermedad. No se consideraron pérdidas de productividad derivadas de mortalidad por hidatidosis, debido a que en el Boletín Epidemiológico Semanal de la *Conselleria de Sanitat Universal i Salut Pública*, no se reportaron casos de muerte por esta causa, para el año analizado (2014). El salario medio de un trabajador de la Comunidad Valenciana para el año 2014 se obtuvo de la Encuesta de Estructura Salarial-2014 (INE, 2016).

En las Tablas 33 y 34 se muestran los parámetros y suposiciones asumidas y consideradas para la evaluación del impacto económico de la hidatidosis y la giardiosis en la Comunidad Valenciana y en la Tabla 35, los valores (en euros) de los procedimientos clínicos asumidos.

**Tabla 33. Parámetros considerados en este estudio para la evaluación del impacto económico de la Hidatidosis en la Comunidad Valenciana.**

Ítem	Frecuencia / cantidad	Referencia
------	-----------------------	------------

<b>Diagnóstico</b>		
Serológico	93,9 %	
ECO+TAC	72,8 %	
TAC	12,1 %	Moreno <i>et al.</i> , 2009
ECO	9,1 %	
ECO+TAC+RMN	6 %	
<b>Tratamiento</b>		
Quirúrgico	36,3 %	
PAIR	6 %	Moreno <i>et al.</i> , 2009
ALB	15,2 %	
Quirúrgico + ALB	30,3 %	
Dosis de tratamiento con ALB x día	800 mg <sup>1</sup>	Ficha técnica Eskazole <sup>®</sup>
<b>Otros</b>		
Estancia media hospitalización (días)	18,4 días	
Duración media del seguimiento	4,5 meses	Carabin <i>et al.</i> , 2014

<sup>1</sup>Dosis diaria total de 800 mg, fraccionada en dos dosis de 400 mg durante un total de 28 días, para un paciente adulto tipo de >60 kg.

TAC: Tomografía axial computarizada. RMN: resonancia magnética nuclear. ALB: albendazol. PAIR: Punción, aspiración, Inyección, reaspiración. \*Actualizado según IPC para el 2014.

**Tabla 34. Parámetros considerados en este estudio para la evaluación del impacto económico de la Giardiosis en la Comunidad Valenciana.**

<b>Ítem</b>	<b>Frecuencia / cantidad</b>	<b>Referencia</b>
<b>Diagnóstico</b>		
Coproparasitológico	100 %	Sánchez Capilla <i>et al.</i> , 2015
ICT	50%	
IFD	10%	García-Bujalance <i>et al.</i> , 2013
<b>Tratamiento</b>		
METRONIDAZOL (MTNDZL)	100%	CDC, 2013
Dosis de tratamiento con MTNDZL x día	2.000 mg/24 h durante 3 días	Ficha técnica metronidazol NORMON 250 mg Comprimidos EFG <sup>®</sup>
<b>Otros</b>		
Estancia media hospitalización (días)	23.3	Sánchez Capilla <i>et al.</i> , 2015
Duración del seguimiento	1 mes	Dato propio

MTNDZL: metronidazol.

**Tabla 35. Costes de los procedimientos clínicos asumidos para la evaluación económica del estudio.**

<b>Procedimiento</b>	<b>Coste</b>	<b>Referencia</b>
----------------------	--------------	-------------------

	(€ x procedimiento/caso)	
Coproparasitológico	14,20* (x2 muestras/ paciente)	Turrientes <i>et al.</i> , 2003
ICT	3,57*	García-Bujalance <i>et al.</i> , 2013
IFD	13,82	Merifluor <i>Cryptosporidium/Giardia</i> [Grifols Movaco SA]
Detección de anticuerpos: método ELISA	13,28	PR0722
Ecografía abdominal	71,88	P01367
TAC	49,13	P01011
RMN	294,70	P01189
PAIR	214,87	
Primera consulta de facultativo	65,02	AM403
Estancia con intervención quirúrgica	341,00	HS0002
Estancia no quirúrgica	310,17	HS0001
ALB (x1 ciclo)	92,76	BotPlus 2.0 (base de datos del medicamento del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos)
MTNDZL (x1 ciclo)	3,52	
Consulta médica de atención primaria en el centro en horario de atención continuada	105,27	AM0202
Consulta médica de atención primaria en el centro en horario ordinario, primera consulta	56,95	AM0401
Consulta a servicio de urgencia hospitalaria	189,49	AM0201
Visita de seguimiento del paciente	40,02	AM407
Salario medio trabajador C. Valenciana (2014, ambos sexos)	20.639,58	INE (2016)

TAC: Tomografía axial computarizada. RM: resonancia magnética nuclear. ALB: albendazol. MTNDZL: metronidazol. PAIR: Punción, aspiración, Inyección, reaspiración. \*Actualizado según IPC para el 2014.



Las suposiciones asumidas y resultantes de la aplicación de los parámetros de manejo clínico de los casos de hidatidosis notificados durante el año 2014 en la Comunidad Valenciana (n = 29), utilizados en la evaluación económica realizada, se muestran en la Tabla 36.

**Tabla 36. Hipótesis asumidas y utilizadas en la evaluación económica del presente estudio, tras la aplicación de los parámetros de manejo clínico según Moreno *et al.*, 2009, a los casos de hidatidosis notificados durante el año 2014 en la Comunidad Valenciana (n=29).**

Ítem de manejo clínico	Frecuencia aplicada	Nº de casos resultantes
<b>Diagnóstico</b>		
Serológico	93,9 %	27
ECO+TAC	72,8 %	21
TAC	12,1 %	4
ECO	9,1 %	3
ECO+TAC+RM	6 %	2
<b>Tratamiento</b>		
quirúrgico	36,3 %	11
PAIR	6 %	2
Albendazol (ALB)	15,2 %	4
quirúrgico + ALB	30,3 %	9
Dosis de tratamiento con ALB x día	800 mg <sup>1</sup>	3 ciclos por paciente <sup>1</sup>
<b>Otros</b>		
Estancia media hospitalización (días)	18,4 días	202,4 (días) <sup>2</sup>
Duración media del seguimiento	4,5 meses	2 visitas de seguimiento x paciente <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estos ciclos, de 28 días de tratamiento, pueden repetirse con periodos de 14 días de descanso entre los ciclos dependiendo de la indicación terapéutica, para un total de 3 ciclos. Además de ello, existen pautas posológicas o duraciones de tratamiento distintas para condiciones especiales:

-Quistes múltiples e inoperables:

Se pueden administrar hasta tres ciclos de 28 días de tratamiento con Eskazole® para el tratamiento de los quistes hepáticos, pulmonares y peritoneales. En localizaciones óseas o cerebrales puede requerirse un tratamiento más prolongado.

-Antes de la cirugía:

Deben administrarse dos ciclos de 28 días antes de la cirugía. En los casos en los que la intervención quirúrgica sea precisa antes de finalizar los dos ciclos, debe administrarse Eskazole® durante el mayor tiempo posible.

-Después de la cirugía:

En los casos en los que sólo se haya administrado un ciclo preoperatorio corto (inferior a 14 días) y en aquellos en los que se requiera cirugía de urgencia, se debe administrar Eskazole® postoperatoriamente durante dos ciclos de 28 días, separados por un periodo de descanso de 14 días. Además, en caso de que los quistes sean viables después del tratamiento prequirúrgico, o si ha habido derrame, debe administrarse un tratamiento completo de dos ciclos.

<sup>2</sup>Para estas situaciones, se realiza un supuesto conservador (11 pacientes para el cálculo de estancia media, un mínimo de 2 visitas por paciente).

### 1.3. ESTUDIO GLOBAL DE CARGA DE LA ENFERMEDAD (AVADs)

Históricamente la mortalidad infantil, la esperanza de vida y las tasas de mortalidad por causa, han sido los indicadores más usados para medir y comparar la salud de las poblaciones, e incluso para definir su grado de desarrollo social y humano. Sin embargo, las medidas de mortalidad sólo reflejan una de las consecuencias de las enfermedades y lesiones (la pérdida potencial de los individuos y poblaciones), pero no valoran, en cambio, las pérdidas funcionales (discapacidad) y de bienestar, que provocan las distintas patologías (Álvarez Martín, 2012). Desde 1996, a partir del Estudio Global de Carga de Enfermedad (*The Global Burden of Disease, GBD 1996*), se utiliza una nueva métrica para evaluar la carga de mortalidad y morbilidad de las enfermedades, de manera conjunta: los Años de Vida Ajustados por la Discapacidad (AVADs, en inglés *DALYs, Disability Adjusted Life Years*). Los AVADs resumen, mediante estudios de carga de la enfermedad, el impacto de la mortalidad y de la discapacidad asociada a enfermedades específicas (Alvis & Valenzuela, 2010). Según la OMS, los AVADs constituyen una de las principales métricas para cuantificar la carga de enfermedad (*Burden of Disease, Global Burden of Disease –GBD–*) producida por la mortalidad y morbilidad. Un AVAD puede interpretarse como un año de vida saludable perdido y, la suma de los AVADs en un población concreta, pueden interpretarse como la brecha entre su estado de salud en el presente y un estado de salud ideal, en el cual toda la población vive hasta edades tardías, libre de enfermedad y discapacidad (GBD group, 2015).

Siguiendo la metodología de Gibney *et al.* (2014), para estimar el impacto en la sociedad de la giardiasis y la criptosporidiosis como causantes de gastroenteritis agudas, se calcularon los AVADs atribuibles a cada una de estas patologías en la Comunidad Valenciana, durante el año 2014.

Para el cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{AVAD} = \text{AVP} + \text{AVD}$$

**AVP:** años de vida perdidos por mortalidad (muerte prematura), estimados como “N x EV”, en este estudio N= número de muertes por una causa concreta (giardiasis o criptosporidiosis) y EV= expectativa de vida al nacer (en años).

**AVD:** años vividos con discapacidad (con una condición dada de enfermedad y/o sus consecuencias). Para su cálculo en este estudio se consideró “ $\sum N \times D_m \times D$ ”, la población afectada (N), la tasa de incidencia(I), la duración de los diferentes estadios de la enfermedad (Dm, en años) y la discapacidad (Nivel o peso de la discapacidad, en inglés *Disability weigh*), atribuible a la misma (0 = máxima salud; 1= muerte).

Las fuentes de cada uno de los datos y componentes del cálculo de AVADs utilizados, se muestran en la Tabla 37.

**Tabla 37. Fuente de los datos utilizados para calcular los años de vida ajustados por la discapacidad (AVAD), asociados a giardiosis y criptosporidiosis.**

Ítem	Nº de casos			Duración de la enfermedad según gravedad			Mortalidad	EV	Población (2014)
	Totales	Ambulatorios	Hospitalizados	Leve	Ambulatoria	Hospitalizados			
<b>Giardiosis</b>	BES CV* (2014)	Sánchez Capilla <i>et al.</i> , 2015	Sánchez Capilla <i>et al.</i> , 2015	Nash <i>et al.</i> , 1987	Homan <i>et al.</i> , 2012	Sánchez Capilla <i>et al.</i> , 2015	RENAVE, 2015 <sup>2</sup>	INE (2014)	INE, 2016 <sup>3</sup>
<b>Criptosporidiosis</b>	BES CV (2014)	The Sensor Study (2001) **	The NIVEL Study (2001)***	Sinclair <i>et al.</i> , 2005	Sinclair <i>et al.</i> , 2005	Robertson <i>et al.</i> , 2001	RENAVE, 2015	INE (2014)	
<b>Peso de la Discapacidad<sup>1</sup></b>	Salomon <i>et al.</i> 2015						-	-	

\*Boletín Epidemiológico Semanal de la *Conselleria de Sanitat Universal i Salut Pública* de la Comunidad Valenciana.

\*\*de Wit *et al.*, 2001a

\*\*\*de Wit *et al.*, 2001b

EV: Esperanza de vida

<sup>1</sup>Para este estudio se consideraron los Pesos de la Discapacidad atribuibles a la condición de “diarrea” (leve, moderada, grave), estandarizados a nivel mundial y obtenidos del último estudio “Disability weights for the Global Burden of Disease 2013 study” (Salomón *et al.*, 2015).

<sup>2</sup>Centro Nacional de Epidemiología. Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2013. Madrid, 2015.

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Estadística (<http://www.ine.es/>).

#### **1.4. DETERMINACIÓN DEL GASTO FARMACOLÓGICO EN HIDATIDOSIS**

Con objeto de contrastar las suposiciones asumidas en las tablas anteriores en relación al gasto farmacológico por paciente ocasionado por el diagnóstico de hidatidosis en la provincia de Castellón, se programó una encuesta a las farmacias de esta región. Se tuvieron en cuenta dos aspectos:

1) El Eskazole<sup>®</sup> (Allen Farmacéutica, Glaxo Smith Kline) es el único medicamento comercializado en España con el principio activo 'albendazol', tratamiento de elección en casos de equinocosis quística humana.

2) En la provincia de Castellón existen -a 3 de enero de 2017- 308 farmacias distribuidas por toda su área geográfica.

La encuesta estuvo formada por una breve introducción informativa, consistente en la presentación del investigador principal, así como de los objetivos que estaba persiguiendo; seguida de una única pregunta, de respuesta voluntaria:

-¿Ha dispensado esta farmacia, en alguna ocasión desde que se tienen registros, el medicamento Eskazole<sup>®</sup>, cuyo código nacional es CN: 690792?

El principio activo de este fármaco es el albendazol, que se emplea en el tratamiento de diversas helmintos, incluida la hidatidosis.

Por otro lado, en nuestro ámbito geográfico el helminto más frecuente es *Enterobius* y el tratamiento en este caso suele ser Lomper<sup>®</sup>, cuyo principio activo es el mebendazol.

## **2. RESULTADOS**

### **2.1. CASOS ANUALES EN SERES HUMANOS EN ESPAÑA Y EN LA COMUNIDAD VALENCIANA DE GIARDIOSIS, CRIPTOSPORIDIOSIS E HIDATIDOSIS**

El número de casos anuales reportados en seres humanos en España y en la Comunidad Valenciana de algunas de las zoonosis parasitarias tratadas en el presente estudio, se muestran en las tablas 38 y 39, discriminado por origen del dato notificado.

-BES: Boletín Epidemiológico Semanal

-IEA: Informe Epidemiológico Anual

**Tabla 38. Casos anuales en humanos reportados en España, de algunas de las zoonosis parasitarias tratadas en el presente estudio, en los últimos 10 años.**

Zoonosis	2005		2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014	
	BES	IEA	BES	IEA	BES	IEA	BES	IEA	BES	IEA	BES	IEA	BES	IEA	BES	IEA	BES	IEA	BES	IEA
Giardiosis	561	561	897	897	904	904	683	683	867	867	559	307	530	641	942	942	880	890	<i>sd</i>	1483
Criptosporidiosis	108	108	262	262	136	136	75	75	307	293	52	57	79	79	299	299	107	107	<i>sd</i>	324
Blastocistosis	545	<i>Sd</i>	583	<i>sd</i>	527	<i>sd</i>	534	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>Sd</i>	<i>Sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>
Amebiosis	54	<i>Sd</i>	48	<i>sd</i>	32	<i>sd</i>	25	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>Sd</i>	<i>Sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>
Hidatidosis*	14**	159	11**	243	23**	195	12	<i>sd</i>	<i>sd</i>	164	<i>Sd</i>	146	<i>sd</i>	111	<i>sd</i>	162	<i>sd</i>	162	<i>sd</i>	150

*sd*: sin datos.

**BES:** Boletín Epidemiológico Semanal

**IEA:** Informe Epidemiológico Anual

\*Esta patología dejó de permanecer al grupo de las Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDOs) en 1997. Debido a este aspecto, los datos de hidatidosis humana que aparecen en la tabla, no son datos reales a nivel estatal.

**Tabla 39. Casos humanos de las zoonosis parasitarias de notificación obligatoria tratadas en el presente estudio, reportadas en la Comunidad Valenciana, en los últimos 10 años.**

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Giardiasis	<i>Sd</i>	<i>Sd</i>	<i>Sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>Sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>Sd</i>	641
Criptosporidiosis	<i>Sd</i>	<i>Sd</i>	<i>Sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>Sd</i>	<i>sd</i>	<i>sd</i>	<i>Sd</i>	89
Hidatidosis*	15	25	40	42	46	38	26	29	30	29

\*Tras la aprobación en 2013 de los nuevos protocolos de la RENAVE (Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica), algunas comunidades autónomas comenzaron a notificar esta enfermedad como EDO en 2014 y sus datos se añaden a las que la notificaban por el SIM (Sistema de Información Microbiológica).

En la tabla 40, se muestran los datos de casos humanos reportados para hidatidosis, en la provincia de Castellón, para el periodo analizado (2005-2014) y en comparación con el escenario autonómico y nacional.

**Tabla 40. Casos de hidatidosis humana reportados en la Comunidad Valenciana, en relación con el total de casos nacionales.**

Años	Alicante	Valencia	Castellón	Comunidad Valenciana	España
2014	1	23	5	29	150
2013	4	19	7	30	162
2012	3	13	5	21	162
2011	10	13	3	26	111
2010	9	20	5	34	146
2009	9	34	3	46	164
2008	9	26	7	42	12
2007	8	26	6	40	195
2006	4	17	4	25	243
2005	0	11	4	15	159

A continuación, se realiza una síntesis de la casuística a nivel nacional de la giardiosis, la criptosporidiosis y la hidatidosis, según las variables de **edad** y **sexo**, que no aparecían en la Tabla 38:

#### 2014

- Giardiosis: mayor proporción en niños entre 1 y 14 años (64%) y en adultos entre 25 y 54 años (24%). En cuanto a la distribución por sexos, el 56% de las 1483 infecciones ocurrieron en varones, lo que supuso 831 en total. El 44% restante corresponde a 647 mujeres. Este dato no figuraba en 5 casos.

- Criptosporidiosis: la mayoría de casos (75%) pertenecían al grupo de edad comprendido entre el año y los nueve años. El 65% de los casos declarados ocurrió en varones.



- Hidatidosis: los grupos de edad con mayores tasas de infección, fueron los de 65-74 años en hombres y los mayores de 84 en mujeres. En niños solo hubo dos casos en el grupo de edad comprendido entre los 10 y los 14 años. El número de casos fue superior en hombres con 86 infecciones (57,3%) frente a 64 casos en mujeres (42,6%).

### **2013**

-Giardiosis: la mayor proporción de casos notificados sucedió en niños de entre 1 y 14 años y en adultos a partir de 25 años. En cuanto a la distribución por sexos, el 57,4% de los casos (511) fueron hombres, mientras que el 42,4% restante, ocurrió en mujeres, lo cual supuso un total de 377. Este dato no figuraba en 2 casos.

- Criptosporidiosis: durante este año, el mayor número de casos de esta enfermedad se dio entre el grupo etario comprendido entre el año de vida y los nueve años (79%). Además, el 57% de los casos ocurrieron en hombres.

- Hidatidosis: el grupo etario más afectado fue el de más de 65 años. En niños (0-14 años) sólo hubo tres casos. El número de casos fue muy superior en hombres, con 101 casos (62,3%), frente a 61 casos en mujeres (37,6%).

### **2012**

- Giardiosis: la mayor proporción de casos se dio en niños de entre 1 y 14 años y en adultos a partir de 25 años. En cuanto a la distribución por sexos el 54,25% de los casos correspondieron a hombres (511 en total) y el 42,14% a mujeres (397). Este dato no figuraba en 34 casos (3,61%).

- Criptosporidiosis: El rango etario más afectado por la enfermedad fue el comprendido entre el año de vida y los cuatro años (70%). El 58% de los casos ocurrió en varones.

- Hidatidosis: por grupos de edad, en este caso se observó un aumento de la incidencia en edades adultas, especialmente en hombres, aunque en mayores de 84 años las tasas fueron muy superiores en mujeres. Durante el año 2013, hubo 3 casos pediátricos. En cuanto a la distribución por sexos, 84 casos ocurrieron hombres, lo cual supuso un 51,85% del total, y 78 en mujeres, lo que significó el 48,15% restante.

## 2011

- Giardiosis: el rango etario mayoritario ocurrió en menores de 15 años (71,3% de los casos totales), siendo el 17,6% de los aislamientos en adultos jóvenes (20-44 años). En cuanto a la distribución por sexos, el 54,9% de los casos sucedió en hombres y 42,6% en mujeres. Este dato no figuraba en 16 casos (2,5%).
- Criptosporidiosis: como en años anteriores y siguiendo con la patogenia usual de la enfermedad, el rango etario mayoritario durante el año 2011, ocurrió en menores de 5 años (72,2%). El número de casos en hombres y mujeres fue muy similar.
- Hidatidosis: los más afectados fueron los grupos de edad con 45 o más años (92/111 casos). Se reportó un caso en un niño de 8 años de edad. Por lo que respecta a la distribución de la enfermedad por sexos, 54 casos (48,7%) ocurrieron en hombres y 57 de ellos (51,3%) en mujeres.

## 2010

- Giardiosis: el rango de edad más afectado fue el comprendido entre 0 y 14 años (69,4%), correspondiendo el 19% de los aislamientos a adultos jóvenes (20-44 años). En cuanto a la distribución por sexos el 56,1% de los casos correspondieron a hombres y el 42% a mujeres. Este dato no figuraba en 11 casos (1,9%).
- Criptosporidiosis: los niños menores de 10 años fueron los individuos más afectados (77,2%). El número de casos en hombres y mujeres fue muy similar.
- Hidatidosis: todos los casos reportados sucedieron en individuos mayores de 14 años. Los grupos de edad más afectados fueron los de 65-74 y 75-84 años. De los casos registrados durante el año 2010, 74 correspondieron a varones (50,7%) y 72 (49,3%) a mujeres.

## 2009

- Giardiosis: como es usual, el mayor número de casos de giardiosis ocurrió en el rango de edad comprendido entre el año de vida y los 9 años de edad (68,6% de los casos totales). La distribución por sexos fue similar: el 52,9% de los casos correspondieron a hombres y el 40,7% a mujeres. Este dato no figuraba en 55 casos (6,3%).
- Criptosporidiosis: de manera similar a lo que ocurre con la giardiasis, el rango de edad más frecuentemente afectado por criptosporidiosis fue el comprendido entre el año y los 9 años de edad (90,9% de los casos). El 54,4% de los aislamientos correspondieron a hombres y el 43,3% a mujeres. En siete casos (2,3%) no se notificó el sexo
- Hidatidosis: los pacientes fueron mayoritariamente (80,5%) adultos con 45 años o más. Durante este año, se notificaron dos infecciones por quiste hidatídico en menores de 9 años. El 57,3% de los casos registrados, se dio en hombres.

## **2008**

- Giardiosis: el rango etario más afectado fue el de 1-9 años (60,6% del total). La distribución por sexos fue muy similar, afectando el 53,6% de los casos, a varones.
- Criptosporidiosis: el 84,7% de los casos ocurrió en niños de entre 1 y 9 años de edad. Casi dos tercios de los casos (60,8%) ocurrieron en varones.
- Hidatidosis: No existen datos disponibles para el año 2008

## **2007**

- Giardiosis: 904 casos. Entre 0 y 9 años, el colectivo con la mayor incidencia. Mayor incidencia en hombres.
- Criptosporidiosis: 136 casos. Entre 0 y 9 años, el colectivo con la mayor incidencia. Mayor incidencia en hombres.
- Hidatidosis: 195 casos. Entre 35 y 44 años, el grupo con mayor incidencia. Mayor incidencia en hombres.

## **2006**

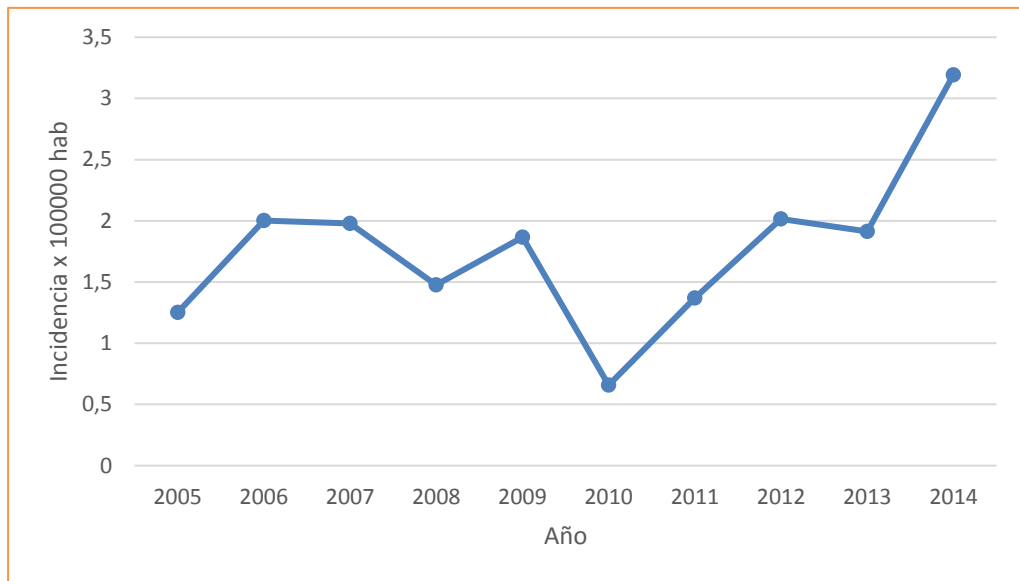
- Giardiosis: Durante el año 2006 se produjeron 897 casos. No existen más datos disponibles.
- Criptosporidiosis: el colectivo con la mayor incidencia fue el comprendido entre los 0 y los 9 años. Se produjo una tasa equitativa entre hombres y mujeres.
- Hidatidosis: el grupo etario con mayor incidencia fue el comprendido entre los 55 y los 64 años. Se produjo un mayor número de casos reportados en hombres.

## **2005**

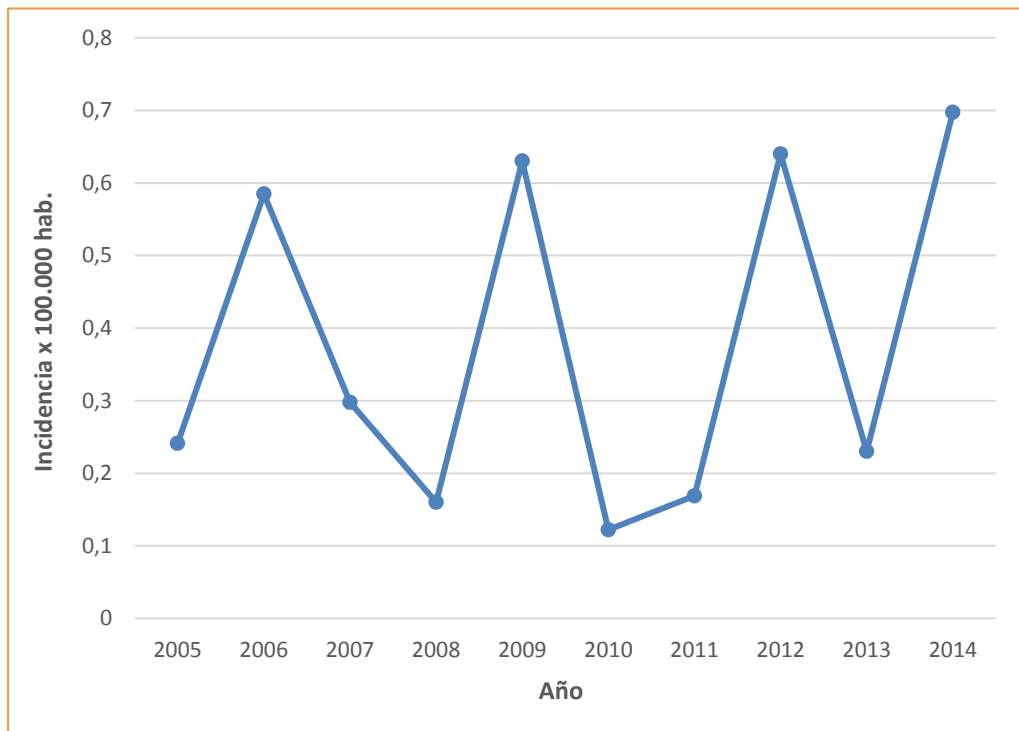
- Giardiosis: se reportaron 561 casos. No existen más datos disponibles.
- Criptosporidiosis: los niños de entre 0 y 4 años fueron el grupo con mayor incidencia. Además, hubo una mayor tasa en hombres que en mujeres.
- Hidatidosis: el mayor número de casos reportados se produjo en el rango etario comprendido entre los 65 y los 74 años. Se observan datos muy semejantes en hombres y mujeres.

### **2.2. INCIDENCIA ANUAL DE GIARDIOSIS, CRIPTOSPORIDIOSIS Y EQUINOCOCOSIS QUÍSTICA O HIDATIDOSIS**

La incidencia anual obtenida a partir de los datos de los Informes Epidemiológicos Anuales (IEA-Instituto de Salud Carlos III), para el periodo 2005-2014, de las tres principales zoonosis descritas en el presente estudio (giardiosis, criptosporidiosis y equinococosis quística o hidatidosis), se muestra en las figuras 50 y 51.

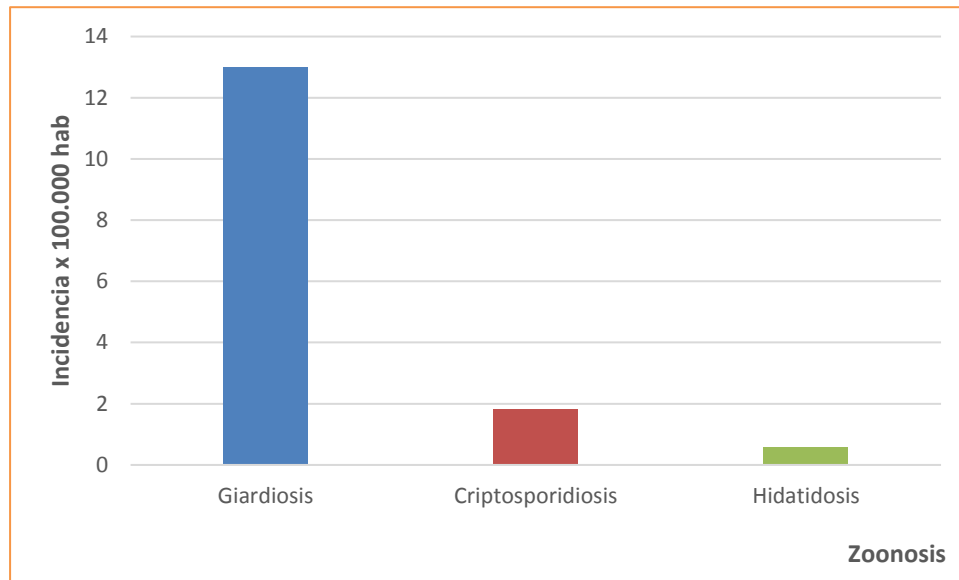


**Figura 50.** Incidencia de la giardiasis humana en España en el período 2005-2014.



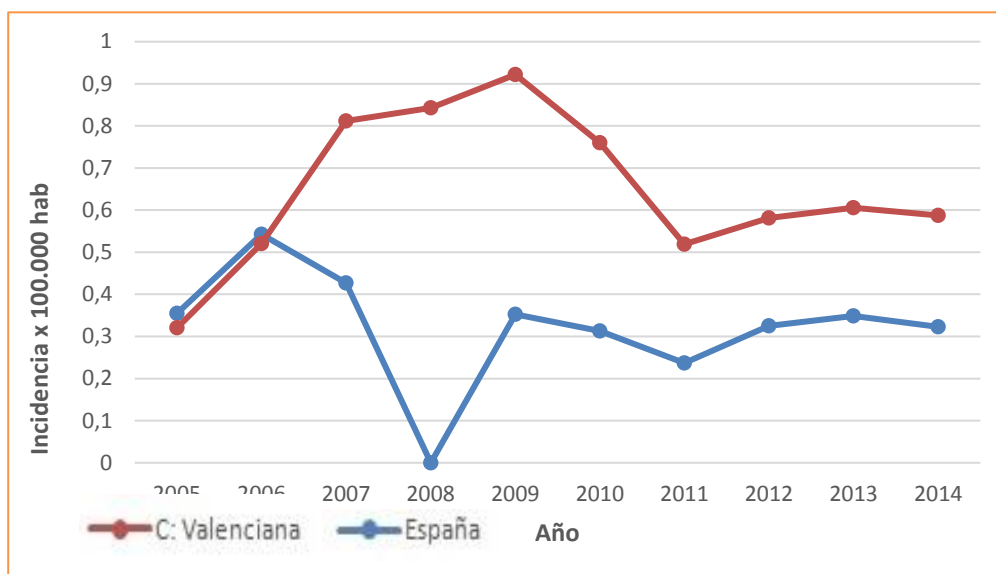
**Figura 51.** Incidencia de la criptosporidiosis humana en España en el periodo 2005-2014.

De las tres zoonosis analizadas a nivel nacional y a partir de los datos recogidos en los boletines epidemiológicos de la Comunidad Valenciana durante el último año registrado, la giardiosis es la que presentó el mayor número de casos humanos, seguida por la criptosporidiosis y en último término, por la hidatidosis (Fig. 52). Este comportamiento de preponderancia de la giardiosis, se observó de igual manera, durante todo el periodo estudiado.



**Figura 52.** Incidencia en humanos de las tres zoonosis parasitarias consideradas, durante el año 2014 en la Comunidad Valenciana (España).

Para el caso particular de la hidatidosis, en la figura 53 se ilustran de manera comparativa las tasas de incidencia anual por 100.000 hab. para la Comunidad Valenciana, frente al escenario nacional.



**Figura 53.** Incidencia de la hidatidosis humana en la Comunidad Valenciana y en España en el periodo 2005-2014. En 2008 no hay datos disponibles de casos humanos totales en España.

## 2.3. COSTES DIRECTOS E INDIRECTOS Y ESTIMACIÓN DE LOS AVADs

### 2.3.1. Hidatidosis

En la Comunidad Valenciana se notificaron en el año 2014, 29 casos de hidatidosis atendidos en los hospitales públicos de la región. Dicha atención supuso, al menos, 8.098,76€/paciente en concepto de costes directos y 825,58€/paciente derivados de costes indirectos, representando un coste total de 105.388,72€ durante el año 2014, como consecuencia de los 29 casos humanos de esta zoonosis en dicha comunidad autónoma (Tabla 41).

**Tabla 41. Costes directos, indirectos y totales, derivados de los casos de hidatidosis humana producidos en la Comunidad Valenciana durante el año 2014. Datos propios.**

	<b>N</b>	<b>Coste por paciente (€)</b>	<b>Coste por total pacientes (€)</b>
<b>Costes de manejo clínico</b>			
<b>COSTES DIRECTOS</b>			
<b>Diagnóstico</b>			
Serológico	27	13,28	358,56
ECO+TAC	21	121,01	2541,21
TAC	4	49,13	196,52
ECO	3	71,88	215,64
ECO+TAC+RMN	2	415,71	831,42
<b>SUBTOTAL</b>		<b>671,01</b>	<b>4.143,35</b>
<b>Tratamiento</b>			
quirúrgico	11	6274,40	69018,40
PAIR	2	214,87	429,74
ALB	4	278,28	1113,12
quirúrgico + ALB	9	620,18	5581,62
<b>SUBTOTAL</b>		<b>7.387,73</b>	<b>7.6142,88</b>
<b>Otros</b>			
Seguimiento	29	40,02	1160,58
<b>SUBTOTAL</b>		<b>40,02</b>	<b>1160,58</b>
<b>TOTAL COSTES DIRECTOS</b>		<b>8.098,76</b>	<b>81.446,81</b>
<b>COSTES INDIRECTOS</b>			
Pérdidas de productividad por morbilidad	29	825,58	23941,91
<b>TOTAL COSTES INDIRECTOS</b>	29	<b>825,58</b>	<b>23941,91</b>
<b>COSTES TOTALES</b>		<b>8.924,34</b>	<b>105.388,72</b>

ECO: Ecografía. TAC: Tomografía axial computarizada. RM: resonancia magnética nuclear. ALB: Albendazol. PAIR: Punción, aspiración, inyección, reaspiración.

Por otro lado, en relación con el gasto económico derivado de estas zoonosis, destaca el uso y dispensación del Eskazole® en las farmacias castellonenses. Este medicamento es el único comercializado en España con el principio activo albendazol, tratamiento de elección en casos de hidatidosis humana.

Se consultaron finalmente, mediante llamada telefónica y una breve conversación, 201 del total de las farmacias de Castellón, lo que supuso el 65% de las mismas.



Según los resultados obtenidos en base a las 201 farmacias consultadas, se determinó que 84 de ellas (el 41,8%), habían dispensado dicho medicamento, con un cómputo global de 409 cajas entre 2001 y 2015. Cada caja contiene 60 comprimidos y tiene un coste de 92,76€ [BotPlus 2.0 (base de datos del medicamento del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos)]. Según la aportación económica de cada paciente, el estado asumirá un porcentaje distinto del PVP, tal y como se muestra en la tabla 42.

**Tabla 42. Aportaciones económicas en la prestación farmacéutica**

Renta anual <sup>1</sup>	Aportación del paciente* (%)	Aportación de la Administración* (€)
inferior a 18.000 €	40	55.66
entre 18.000 y 100.000 €	50	46.38
superior a 100.000 €	60	37.10
Pensionistas entre 18.000 y 100.000 €	10	83.48
Pensionistas con renta inferior a 18.000 €, parados de larga duración, otros	0	92.76

<sup>1</sup>Adaptado de *Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud*. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

\*Sobre el PVP.

### 2.3.2. Giardiosis y cryptosporidiosis

En la Comunidad Valenciana se notificaron en el año 2014, 641 casos de giardiasis. En la tabla 43 se detalla el gasto económico que ello supuso.

En las tablas 44 y 45, se muestran los resultados del estudio de carga de enfermedad\* en la Comunidad Valenciana para el año 2014, atribuibles a la giardiosis y a la cryptosporidiosis. Las gastroenteritis agudas provocadas por *Giardia* spp. representaron 5,8 AVAD, y 0,15 AVAD por *Cryptosporidium* spp. Estos AVAD se deben al impacto de la discapacidad (pérdidas funcionales) derivada de estas patologías, ya que no se registraron muertes por ellas en las últimas dos décadas en España.

\*La carga de enfermedad es un indicador utilizado para medir el impacto de las pérdidas mortales y no mortales de las enfermedades y los accidentes en las personas (AVAD), para orientar la toma de decisiones por medio de la priorización e inversión económica en salud (Osley, 2012)

**Tabla 43. Costes directos, indirectos y totales, derivados de los casos de giardiosis humana producidos en la Comunidad Valenciana durante el año 2014. Datos propios.**

	n	Coste por paciente (€)	Coste por total pacientes (€)
<b>COSTES DE MANEJO CLÍNICO</b>			
<b>Diagnóstico</b>			
Coproparasitológico	641	14,20	9102,2
ICT	320	3,57	1142,4
IFD	64	13,82	884,48
<b>SUBTOTAL DIAGNÓSTICO</b>		<b>31,59</b>	<b>11129,08</b>
<b>Tratamiento</b>			
Metronidazol	641	3,52	2256,32
<b>SUBTOTAL TRATAMIENTO</b>		<b>3,52</b>	<b>2256,32</b>
<b>Otros</b>			
Consulta médica de atención primaria en el centro en horario de atención continuada	556	105,27	58530,12
Consulta médica de atención primaria en el centro en horario ordinario, primera consulta	556	56,95	31664,2
Consulta a servicio de urgencia hospitalaria	43	189,49	8148,07
Ingreso hospitalario	68	310,17	21091,56
Consulta sucesiva de seguimiento	641	40,02	25652,82

SUBTOTAL OTROS		<b>701,9</b>	<b>54892,45</b>
<b>TOTAL COSTES DIRECTOS</b>		<b>737,01</b>	<b>68277,85</b>
<b>COSTES INDIRECTOS</b>			
Pérdidas de productividad por morbilidad	641	848,18*-1317,54 ( $\bar{X}$ = 1082.86)	694113,26
<b>TOTAL COSTES INDIRECTOS</b>		848,18*-1317,54	694113,26
<b>COSTES TOTALES</b>		<b>1068,14*-8601,85</b>	<b>762391,11</b>

\*El valor mínimo estimado corresponde a un paciente ambulatorio (COPROPARASITOLÓGICO + CONSULTA MÉDICA (1ª Y 2ª) + VISITA SEGUIMIENTO+PÉRDIDA PRODUCTIVIDAD x 15 días), y el valor máximo a un paciente con ingreso hospitalario (COPROPARASITOLÓGICO + ICT + INGRESOS/QUIRÚRGICO + MTNDZL + SEGUIMIENTO + PÉRDIDAS PRODUCTIVIDAD).

**Tabla 44. Estimación de la carga de gastroenteritis aguda por giardiasis y por criptosporidiosis en la Comunidad Valenciana durante el año 2014, número de casos y muertes y duración de la enfermedad y Peso de la Discapacidad.**

Ítem	Nº de casos (% del total)				Nº muertes (Nº/100.000 casos)	Días de duración de la enfermedad según gravedad (años)			Peso de la Discapacidad		Población (2014)	
	Totales	Leve	Ambulatorios	Hospitalizados		INE, 2016 <sup>3</sup>	Leve	Ambulatorios	Hospitalizados	L	M	S
<b>Giardiosis</b>	641	17 (2,6)	556 (86.7)	68 (10,7)	0	5 (0,013)	15 (0,04)	23.3 (0,06)	0,074	0,188	0,247	4.939.674
<b>Criptosporidiosis</b>	89	76 (86.0)	11 (12,3)	2 (1,7)	0	4 (0,010)	12,5 (0,03)	21,4 (0,05)				

L: leve. M: moderada. S: severa.

<sup>1</sup> El último caso reportado de muerte por giardiasis en España fue en el año 1953 (hombre).

<sup>2</sup> El último caso reportado de muerte por criptosporidiosis en España fue en el año 1999 (mujer).

**Tabla 45. Carga anual de *Giardia* y *Cryptosporidium* como causantes de gastroenteritis aguda en la Comunidad Valenciana, 2014. Número de casos y muertes, Incidencia (I) y AVAD.**

	Secuelas	Nº de casos	I (x 100.000 hab.)	Nº muertes	AVAD
<b><i>Giardia</i></b>	nulas*	641	12,97	0	5,8
<b><i>Cryptosporidium</i></b>	nulas**	89	1,80	0	0,15

\*Aunque las secuelas de la giardiasis son inexistentes en fase aguda, la enfermedad puede cronificar subsecuentemente a la forma aguda o en áreas endémicas. En este caso, existirá persistencia de heces esteatorreicas, pérdida de peso debida a la malabsorción de nutrientes y alternancia de diarrea y estreñimiento.

\*\*En este caso ocurre algo semejante: en individuos inmunocomprometidos, la infección cursa con una diarrea crónica, copiosa y acuosa con un gran aumento del peristaltismo intestinal y producción de más de 20 litros de excrementos por día, pudiendo llegar al fallecimiento del paciente.

## DISCUSIÓN

---



## **Estudio sobre la presencia de parásitos intestinales de importancia zoonótica en perros en la provincia de Castellón**

El perro (*Canis lupus familiaris*) ha acompañado al hombre desde tiempos inmemoriales, bien como animal de compañía, de caza o de guarda. Sin embargo, a pesar de los diversos beneficios que aportan los perros al hombre, la proximidad y número de ejemplares en constante aumento en nuestra sociedad, transforma estos animales de compañía en potenciales portadores de numerosos parásitos, muchos de los cuales son zoonóticos y suponen un grave problema de salud pública. Además, el interés por su papel como reservorio de esos parásitos ha aumentado en los últimos años debido al fenómeno de “humanización” que estos animales están sufriendo en nuestra sociedad, donde se les incluye dentro de la familia como a un ser humano más (ej. besarles, dejarse lamer por ellos, dormir en su compañía o no lavarse después de tocarles, etc.) (Chomel & Sun, 2011), aumentando indudablemente las posibilidades de transmisión de diversas enfermedades realmente peligrosas, sobre todo a los niños. Asimismo, los perros pueden servir como puente entre ciclos biológicos silvestres y comunidades humanas, potenciando los ciclos de transmisión. Según Semenas *et al.* (2014), aumentar el conocimiento de la realidad que nos rodea en referencia a las zoonosis, nos ayudará a prevenirlas y/o tratarlas en humanos.

Existen pocos estudios en España que analicen las parasitosis zoonóticas asociadas a los perros y la mayoría hacen referencia a las enfermedades de transmisión vectorial como la Leishmaniosis. Los pocos estudios que analizan los parásitos intestinales de los canidos, lo hacen sobre animales de poblaciones concretas, muy pocos se centran en una provincia completa (Martínez-Carrasco *et al.*, 2007; Dado *et al.*, 2012; Orduño *et al.*, 2014) o hacen referencia a un parásito en concreto como *Giardia*, *Cryptosporidium* o *Echinococcus* (Benito *et al.*, 2006; Gil *et al.*, 2017; de Lucio *et al.*, 2017). Asimismo, algunos estudios se han realizado con el fin de determinar el grado de contaminación con parásitos intestinales en parques o zonas de recreo públicos (Martínez-Moreno *et al.*, 2007; Dado *et al.*, 2012).

Se presenta el primer estudio dedicado a conocer la prevalencia de parásitos intestinales en perros de la provincia de Castellón. En el mismo, destaca el alto porcentaje de infección helmíntica y protozoaria en perros (64,08%).

En un reciente trabajo realizado en Cataluña donde se investigaban parásitos intestinales en perros de albergues y de cazadores, encontraron que la prevalencia de parásitos totales en perros era del 71,6% (Ortuño *et al.*, 2014). Otro estudio similar realizado en Cordoba (Martínez-Moreno *et al.*, 2007) determinó una prevalencia del 71,33% en animales que habían sido recogidos por la perrera. En Madrid, a diferencia de los anteriores estudios, encontraron una prevalencia del 28% en perros de albergues. Martínez-Carrasco *et al.*, en 2007 llevaron a cabo un estudio en Murcia, sobre 275 perros de diferentes orígenes y encontraron que la prevalencia parasitaria era del 25%, aunque en este caso, la mayor parte de los animales eran perros de compañía sanos (no de trabajo).

Si comparamos nuestros resultados con otros países del Mediterráneo, comprobamos que la prevalencia media es superior en nuestro caso, Grecia (21,16%) (Sotiraki *et al.*, 2003); Oporto-Portugal- (27,15%) (Neves *et al.*, 2014); Milán-Italia- (28,2-57,4%) (Zanzani *et al.*, 2014) y Turquía (18,8%) (Gultekin *et al.*, 2017). Aunque en un estudio realizado en Portugal donde no se incluyeron perros de compañía era similar al nuestro (66,13%) (Mateus *et al.*, 2014).

Nuestros datos siguen siendo elevados si comparamos con otros países europeos, así en un amplio estudio realizado en Alemania, encontraron una prevalencia del 32,2% (Barutzki *et al.*, 2003). Datos similares a los anteriores se han recogido en Polonia con una prevalencia del 37,4% (Szwabe & Blaszkowska, 2017). Sin embargo, en un estudio retrospectivo reallizado en Reino Unido, la prevalencia global era muy baja, de solo el 14,6%, pero el mismo se había realizado sobre animales de compañía que acudieron a consulta veterinaria (Batchelor *et al.*, 2008).

En las heces de los animales encontramos 16 especies parasitarias. Y entre los parásitos potencialmente zoonóticos encontrados en nuestro estudio están *Giardia intestinalis*, *Toxocara canis*, ancylostomatidos, *Cryptosporidium sp.*, *Dipylidium caninum*, *Blastocystis hominis*, taenidos, *Strongyloides sp.* e *Hymenolepis nana*. De forma global el más prevalente fue *Giardia*, un 34,49%, seguida de los ancylostomidos (21,55%) y de *Toxocara canis* (9,48%).



Resultados similares en cuanto a los parásitos encontrados se indican en otros estudios realizados en nuestro país, aunque varían en cuanto a la prevalencia global y de cada uno de los parásitos.

En un estudio realizado en Córdoba, por Martínez Moreno *et al.* (2007) basado en el análisis de muestras de 1.800 perros abandonados y recogidos en residencias caninas y también en el análisis de arenas obtenidas en parques públicos de esa ciudad, se demostró la presencia de un total de 10 especies parasitarias. Cabe destacar en su estudio la elevada prevalencia de *Cytoisospora spp* (32,22%) y la escasa presencia de *Giardia* (1%), lo que posiblemente sea debido a que el estudio coprológico solo se llevó a cabo mediante flotación. En nuestro estudio la presencia de coccidios fue muy reducida (4,02%), y se limitó a *Cytoisospora* y *Neospora*. No fue posible encontrar *Sarcocystis sp.* La presencia de este parásito está relacionada con fenómenos de carnivorismo y depredación, y hubiera sido esperable encontrarlo en los perros ovejeros que frecuentemente eran alimentados con animales muertos, pero no en los restantes grupos ya que eran alimentados mayormente con pienso y productos cárnicos comerciales.

En ese mismo estudio también detectan una prevalencia del 17,72% para *Toxocara* y además alertaban sobre la elevada presencia de huevos de *Toxocara canis* en las muestras de suelo de parques públicos (36,4%). En nuestro estudio, también se encontró este nematodo, pero en una tasa menor (9,48%). Sin embargo, dado que los resultados encontrados en el total de perros pueden ser un reflejo de la presencia de este parásito en la población canina de Castellón, sería recomendable evaluar la presencia de huevos de *T. canis* en las arenas de parques públicos de esta provincia, teniendo en cuenta su importancia zoonótica.

En un estudio realizado por Martínez Carrasco *et al.* (2007), sobre perros de compañía y callejeros de Murcia, se encontraron las mismas especies parasitarias en las muestras fecales, que en nuestro estudio, siendo los más frecuentes *Toxocara canis*, ancylostómidos y *Toxascaris leonina*. *T. canis*, presentó una prevalencia del 8%, valor muy similar al nuestro.

En ese estudio, de igual forma que en el de Córdoba, se procedió adicionalmente al sacrificio y análisis de los parásitos presentes en el intestino de los animales. Ciertos autores consideran que este procedimiento permite un mayor número de hallazgos parasitológicos. De hecho, en dicho trabajo, sobre necropsias, encontraron un 12% de *Taenia* spp. y un 38% de *D. caninum*, que no habían sido encontrados o estaban en tasas muy bajas en las heces. En nuestro estudio se detectaron ambos parásitos (Taeniidae y *D. caninum*) en muy baja proporción, posiblemente porque la eliminación de huevos suele ser bastante fluctuante. Sin embargo, en nuestro caso no estaba previsto el sacrificio de los animales, ni los abandonados, por condicionantes éticos y por el carácter de las entidades colaboradoras, que promocionan los derechos de los animales y la adopción.

Otro estudio similar realizado por G. Miró *et al.* (2007) en Madrid, demostró la presencia de un total de 8 especies y una prevalencia global de parásitos intestinales del 28%. En el estudio se procedió al análisis de 1161 muestras de materia fecal canina correspondiente a perros de refugio. El parásito más frecuente fue *T. canis*, con un 7.8% de prevalencia, seguido por *Giardia intestinalis* (7%).

Un estudio más, realizado por Benito *et al.* (2003) en la provincia de Álava, sobre un total de 1040 perros de refugio (abandonados o extraviados) muestra un total de 10 especies identificadas de las que destacan *Uncinaria stenocephala*, con un 28,4% de prevalencia, incluida en el presente trabajo dentro de la familia Ancylostomatidae por la dificultad de diferenciar los huevos de las diferentes especies de esta familia; y *Toxocara canis*, con tan sólo un 5,6% de prevalencia.

En Barcelona, Ortuño & Castellà durante el año 2011, recolectaron un total de 544 muestras de heces de perros de refugio, con un resultado global de 11 especies parasitarias que suponían una prevalencia del 61.8%, similar a la de nuestro estudio. Ellos exponen una prevalencia de *Giardia* del 40.6% tan solo tras haber realizado pruebas microscópicas, un 16,4% de *Cystoisospora* sp. y un 11% de *Trichuris vulpis*, valores todos ellos por encima de los hallados en nuestro estudio. Sin embargo, las muestras parasitadas con ancylostomátidos (5,3%) y con *Dipylidium caninum* (0,4%) están muy por debajo de las nuestras, con un 21,55% y un 2,3%, respectivamente. Por otro lado, en ambos estudios se encuentran muestras positivas para el género *Hymenolepis*.

En un estudio paralelo al anterior, realizado también en Cataluña, se compararon las prevalencias de parásitos intestinales entre perros de albergues y perros destinados a la caza. La prevalencia global es un poco superior a la nuestra, con un 71,6% de parasitismo en cada uno de los dos estatus examinados, habiéndose recogido un total de 169 muestras, un número bastante inferior al analizado en el presente trabajo. Encuentran 8 especies, destacando como mayoritaria *Giardia* spp, con una presencia del 37,4% resultado muy similar al nuestro (Orduño *et al.*, 2014).

Si comparamos las especies/géneros parasitarios que aparecen en nuestro trabajo con los que se encuentran en los estudios realizados en Europa, vemos que no existen diferencias sustanciales, salvo en la presencia de huevos de *Capillaria* spp en los estudios realizados en Alemania (Barutzki & Schaper, 2003) y en Polonia (Szwabe & Błaszowska, 2017). En España, se han detectado especies de *Capillaria* no zoonóticas en lince ibérico (Acosta *et al.*, 2011) y gatos (Miró *et al.*, 2004).

En otros países se encuentran los mismos parásitos, aunque la prevalencia varía desde un 8,79% en EE.UU (solo para nematodos) hasta el 82,5% en Durban (Sudáfrica), debido fundamentalmente a las condiciones higienico-sanitarias y de control de cada país.

Cuando analizamos los parásitos encontrados en nuestro estudio, en función de la aptitud de los animales, observamos que era del 55,9% en los albergues, del 58,33 en los de cría, 50% en los de compañía, de un 91,66% en los perros ovejeros y en los de caza, de un 85,29%.

La mayor parte de nuestros datos proceden de los animales extraviados y ubicados en el momento del estudio, en cuatro albergues caninos, de los cuales los dos más importantes, por su gran concentración de canes estaban ubicados en el término municipal de Vinaròs y eran los encargados de acoger a los perros abandonados de muchas poblaciones de la provincia de Castellón.

Debemos tener en cuenta que en los últimos años, debido a una mayor concienciación de la sociedad, se ha tendido desde las administraciones públicas a una reducción de las perreras, como elementos de recogida y eliminación de animales callejeros, en favor de los albergues o protectoras de animales. Estos centros han pasado a tener una doble función, por una parte, la de recogida de perros (entre otras especies animales) abandonados en la calle y su mantenimiento y cuidado, y por otra, la de su

inserción, en la medida de lo posible, en un nuevo hogar para evitar así el sacrificio innecesario de animales. Paralelamente, en los últimos años, el número de animales recogidos en los albergues ha aumentado significativamente, y aunque las instalaciones en la mayoría de ellos son adecuadas, el hacinamiento, la edad y la distinta procedencia de los animales favorecen, entre otros factores, la diseminación de infecciones parasitarias.

Las condiciones de los dos albergues eran muy diferentes, su aspecto, su higiene, su estrategia distribución de los canes, su economía, lo que afectaba a la presencia de parásitos. En la residencia R1, de propiedad privada, se ha constatado un aspecto limpio, aseado, ordenado, estético, estructurado y libre de heces en las zonas de paso de personas. Además, los perros están situados en jaulas amplias, limpias y en las que hay recogida de heces diaria. Es visitada regularmente por un veterinario que controla a los perros de cría y venta. La segunda de las residencias visitadas, R2, por el contrario, está patrocinada por una asociación protectora de animales que se financia con donaciones tanto públicas como privadas, siendo actualmente pobres y escasas. Está regida por voluntarios sin conocimientos especializados o profesionales. Tiene una distribución de los canes abierta, la recogida de heces no es tan metódica o escrupulosa y el aspecto en general, es sucio y aparentemente propenso a las parasitosis. Se podría pensar que la falta de recursos económicos de esta institución podría condicionar la adquisición de antiparasitarios adecuados o hacerlo en cantidad insuficiente para atender a un número tan elevado de perros como ocurre especialmente al final del verano. Esto podría representar un problema de salud pública que debería ser convenientemente considerado. Sin embargo, el resultado del presente estudio señala de forma paradójica que, la residencia R1, tiene una presencia de parásitos bastante más elevada que el segundo (un 15,83% más), con lo que podríamos inferir que no siempre los recursos económicos disponibles son el principal motivo de una elevada carga parasitaria. Diversos autores afirman que, a pesar de las medidas higiénicas, la desparasitación regular con antihelmínticos y la alta calidad de la alimentación en estos animales es frecuente la aparición parásitos intestinales (Senlik *et al.*, 2006; Ahmed, *et al.*, 2014).

Tras realizar una encuesta a los propietarios de la residencia R1, se detectó que no desparasitaban a los perros que no fueran objeto de crianza y venta, por motivos económicos. Y es que, los perros albergados en dicha residencia, permanecen allí un promedio de un mes, previo a la exportación a otros países como Alemania, o al sacrificio, si no eran reclamados por sus dueños o por familias de acogida. En los perros en los que sí se realizaba la desparasitación, el propietario de la residencia no recordaba exactamente cuando había sido la última fecha de ésta, pero que podría hacer más de tres meses del tratamiento. Tampoco se pudo acceder a los datos acerca de los fármacos utilizados. Esa podría ser la causa de que el 25% de los perros destinados a la crianza, y que habíamos mostrado, estuvieran parasitados.

En cuanto a la residencia 2, tras la misma encuesta, nos indicaron que la desparasitación se efectuaba con Febantel 150mg, Pirantel 50mg y Praziquantel 50mg, en un único comprimido masticable (Helm-Ex<sup>®</sup>). En el momento de la toma de muestras, se nos indicó que hacía más de un mes y menos de tres desde la última desparasitación.

Los diferentes resultados de parasitación observados en ambas protectoras, demuestran la importancia de la desparasitación farmacológica periódica, independientemente de las medidas de limpieza utilizadas con los animales. La convivencia de los animales facilita el contagio, y de hecho en el albergue R1, los animales dedicados a la cría y venta también estaban parasitados, a pesar de ser los únicos sometidos a desparasitaciones periódicas, pero al coexistir con otros animales parasitados se facilita su infestación. Por el contrario, la desparasitación con antihelmínticos de forma regular ha permitido reducir la carga parasitaria entre los animales de la residencia R2 a pesar de un mayor hacinamiento de los mismos. En la residencia R2, el parásito más frecuente fue *Giardia* que no es sensible a esos anti-parasitarios.

La presencia de varios ejemplares caninos en un único recinto enjaulado tal y como se muestra en la figura 54 ha dificultado la atribución de ciertas muestras a un individuo concreto, con las carencias de información consiguientes en cuanto a relación de parásitos con el sexo o raza de los animales. Sin embargo, los datos obtenidos nos permiten tener una visión clara del grado de parasitación de los animales y supone una

primera aproximación, para el establecimiento de la prevalencia de las parasitosis zoonóticas más frecuentes en Castellón.



**Figura 54.** Convivencia de perros en un mismo recinto de la residencia canina. Foto propia

La mayor parte de los estudios realizados en España se han hecho también en perros de albergues y los más antiguos en perreras. Tal y como se indicó previamente las prevalencias más similares fueron las que se detectaron en las de Cataluña (Orduña *et al.*, 2011, 2014).

Por otro lado, es de destacar la prevalencia encontrada en los perros de compañía, superior a la que cabría esperar, ya que normalmente este tipo de animales suelen estar desparasitado. En este grupo, los parásitos que se encontraron mayoritariamente fueron *Giardia* y *Cryptosporidium*, posiblemente porque la desparasitación periódica recomendada por los veterinarios va encaminada a la eliminación de helmintos y estas protozoosis solo se tratan cuando hay sintomatología. Aunque, se ha sugerido que los protozoos intestinales podrían colonizar los nichos libres que dejen esos helmintos (Bugg *et al.*, 1999).

En cuanto a los perros de caza, una de las granjas visitadas (a partir de ahora, granja A), los mantenía en condiciones deficientes. Cabe decir que, la caza del jabalí, lo mismo que el resto de especies cinegéticas está regulada según las órdenes de cada comunidad autónoma, pero por lo general y en el caso de la Comunidad Valenciana, engloba el lapso de tiempo entre el 12 de octubre y el 6 de diciembre y solo en sábados, domingos y festivos (Diari Oficial de la Generalitat Valenciana). Es necesario saber esto porque podría justificar las condiciones en las que se mantienen a estos animales. En el año 2016, la veda abierta ha estado compuesta por tan sólo 19 días hábiles para la caza, el resto de los días, 346 en total, los perros deben estar enjaulados. La persona que acudía a mantener los perros de la granja A, cambiaba el agua una vez al mes, y aunque no hay datos de su alimentación, los perros no mostraban aspecto de ser alimentados a diario. En la granja A, situada al norte de la provincia de Castellón había del orden de 30 perros los cuales eran desparasitados una vez al año, en lugar de las 4 mínimas recomendables. La justificación de los cuidadores era la común afirmación de que el gasto que supondría una adecuada alimentación, limpieza y sustento general (incluida la desparasitación) de los perros (generalmente manadas de unos 30 a 60 perros) para su uso real consistente en esos 19 días, no compensaría las ganancias obtenidas. Así pues, esta es una razón por la que se han tratado estos perros como un estatus aparte, ya que a pesar de tener propietario, éste no los considera como mascotas sino como un instrumento de trabajo, por lo que no les ofrece los mismos cuidados que a éstas. Sin embargo, a pesar de las condiciones de hacinamiento, aparente desnutrición, cautividad y suciedad general, la parasitación no era tan alta como lo que se podría esperar.

No sucede lo mismo con los perros mantenidos en la granja B. Estos canes gozaban de una mejor alimentación y una libertad controlada (no estaban enjaulados). Por el contrario, el 87% de ellos estaban infestados por ancylostomátidos. El propietario afirmaba desparasitarlos una vez al año pero no recordaba cuándo fue la última vez que procedió a ello.

En los perros de caza, el porcentaje de *Giardia* fue tan solo del 20,59%. La prevalencia de *Trichuris* por el contrario fue más elevada que en los perros abandonados, con un 13,23 %, y los parásitos más frecuentes fueron los ancylostomatidos (76,47 %). En la literatura hemos encontrado pocos estudios que analicen los parásitos intestinales de los perros de caza, y en general refieren a un

parásito en concreto. Así, en Grecia encuentran que *Echinococcus* aparece en un 19,2% de los perros de caza (Sotiraki *et al.*, 2003). En nuestro estudio la prevalencia global de taenidos ha sido muy baja, solo un 1,15 %, aunque en los perros de caza fue de 2,94%. Sin embargo, fue imposible caracterizar la especie concreta dentro de esta familia.

En cuanto a los perros dedicados al pastoreo de ovino, ninguna de las granjas visitadas afirmaba desparasitar a sus perros. Su cuidado era mejor que los cazadores por el simple hecho de ser un número mucho menor (no superaban nunca la decena de perros por granja). En cuanto a su alimentación, algunos pastores afirmaban que les daban vísceras crudas o incluso corderos jóvenes que habían fallecido, como se puede ver en la figura 55, tomada de una de las granjas visitadas. Esta costumbre es, de hecho, la que facilita la propagación de la hidatidosis.



**Figura 55.** Perro alimentándose de un cordero lechal fallecido recientemente



En nuestro estudio encontramos una baja prevalencia de taenidos, un 1,15%. Solo fueron detectados en los perros abandonados y en los de caza.

El perro es susceptible de albergar diferentes especies de la familia Taeniidae, *Taenia hydatigena*, *Taenia multiceps*, *T.pisiformis*, *T.brauni*, *Taenia serialis*, *Echinococcus granulosus* y *E.multilocularis* cuyos huevos son morfológicamente indistinguibles. Para la identificación de la especie concreta es necesario aplicar diferentes técnicas, como el análisis de coproantígenos y/o aplicación de PCR específicas (Eckert & Deplazes, 2004). En el presente estudio no ha sido posible hasta el momento identificar la especie concreta de dichas muestras. Existen pocos estudios en la bibliografía que determinen la prevalencia de *Echinococcus* en perros en España, así, Benito *et al.*, 2006, indica que es del 8% en perros del norte de España pero no se recogen datos previos de la Comunidad Valenciana. Los casos de hidatidosis en dicha comunidad en los últimos años suponen entre el 15-20% del total de los casos en España (Tablas 38 y 39), por tanto es fundamental profundizar en la presencia de este parásito en los perros en esta área geográfica.

El parásito más frecuente en nuestro estudio, sin embargo, fue *Giardia intestinales*. Los estudios moleculares desarrollados en los últimos años han demostrado la presencia de *assamblages* y *sub-assamblages* con diferente especificidad hacia el hospedador. Hasta el momento solo los *assamblages* A y B son considerados zoonóticos (Haque *et al.*, 2005; Lebbad *et al.*, 2008; Lebbad *et al.*, 2011).

Basándose en el análisis de los genes que codifican para beta-giardina (bg), glutamato deshidrogenasa (gdh) y triosa fosfato isomerasa (tpi), se han establecido los siguientes *sub-assamblages* AI, AII-1, AII-2, AIII, BIII y BIV. De todas ellas, AII se considera que es típicamente humana, AIII es exclusiva de animales y el resto parecen tener una menor importancia zoonótica (Lebbad *et al.*, 2011).

En el caso de los perros, las genovariedades propias de *Giardia intestinalis* son la C y D, que parecen no afectar al hombre, aunque también es posible encontrar la A y B.

En nuestro estudio encontramos los *assamblages* A, B, C y D. El más frecuente fue el D, seguido de B y A, y el más raro fue C. Entre los *sub-assamblages* encontramos AII, AIII, BIII y BIV.

En los perros de albergue, C y D fueron los más frecuentes. En el resto de animales hubo una mayor variedad, llamando la atención que en los perros de caza y de cría predominaban los *sub-assamblages* considerados zoonóticos.

En un reciente estudio realizado en perros, gatos y humanos del norte de España, donde se trataba de evaluar la posible transmisión de *Giardia* de estos animales a sus dueños, encontraron que de los *assamblages* propios de los canidos identificaron solamente el C, al contrario que en nuestro trabajo donde fue predominante el D. Entre los zoonóticos solo detectaron una muestra con B que finalmente se asignó como *sub-assamblage* BIV (de Lucio *et al.*, 2017), mientras que en nuestro estudio encontramos todas las variantes de A y B. El mismo grupo de investigación en un estudio con un mayor número de animales, volvieron a encontrar el *assamblage* C como predominante entre los no zoonóticos, pero eran más numerosas las muestras que presentaban *assamblages* zoonóticos AII, BIII y BIV (Gil *et al.*, 2017).

En estudios similares realizados en varios países detectaron también, tanto los *assamblages* no zoonóticos, C y D, como los zoonóticos, B y A (Dado *et al.*, 2012; Uehlinger *et al.*, 2013; Inpankaew *et al.*, 2014; Piekarska *et al.*, 2016; Quadros *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2016). Sin embargo, en varios trabajos solo detectan los *assamblages* C y D (Orduño *et al.*, 2014; Paoletti *et al.*, 2015; Hascall *et al.*, 2016)

En relación a *Cryptosporium*, en nuestro estudio presentó una frecuencia de aparición del 4,6%, apareciendo mayoritariamente en los perros abandonados y de caza. Sin embargo, no fue posible la caracterización molecular de ninguna de las muestras. En España existe un número reducido de trabajos que analicen este parásito en perros, y la frecuencia de aparición en heces varía entre 4-9% (Causapé *et al.*, 1996; Dado *et al.*, 2012; Gil *et al.*, 2017)

La incorporación de criptosporidiosis a la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica se inicio en 2009, por ello los datos de esta enfermedad en España son escasos. En la bibliografía se recogen diversos estudios en relación a casos en niños, adultos, tanto inmunocompetentes como inmunosuprimidos en diversas regiones de España (Navarro-i-Martinez *et al.*, 2011). Además, se ha detectado que este parásito circula tanto en hombre como en animales y está presente en aguas de ríos y otras zonas

de captación de aguas para consumo, lodos de diques, lodos y aguas procedentes de plantas de tratamiento de aguas residuales y potabilizadoras, utilizadas para riego y consumo humano mostrando frecuencias de contaminación entre el 15,4 y el 100% (Carmena *et al.*, 2007; Castro-Hermida *et al.*, 2008; Navarro-i-Martinez *et al.*, 2011; Galvan *et al.*, 2014) e incluso en moluscos bivalos (Gómez-Couso *et al.*, 2003).

Por otro lado, los estudios de caracterización molecular han demostrado la circulación, en España, de cuatro especies importantes en epidemiología humana, *C. parvum*, *C. hominis*, *C. meleagridis* y *C. felis* (Navarro-i-Martinez *et al.*, 2011), aunque no se podido establecer la transmisión zoonósica de *Cryptosporidium* entre humanos y perros en los estudios realizados en España (de Lucio *et al.*, 2017).

De entre los datos obtenidos, también cabe destacar la significativa prevalencia de *Toxocara canis*. Este parásito presenta un ciclo muy complejo en el cual las hembras preñadas y en periodo de lactancia juegan un papel crucial al mantener un ciclo alternativo por vía transplacentaria y transmamaria, lo que asegura que prácticamente el 100% de los cachorros acaben estando parasitados por este nematodo. Actualmente se desconoce la prevalencia de este parásito en humanos en España, ya que los últimos registros sobre población autoctona datan de finales del siglo XX (Fenoy *et al.*, 1996; 1997) (Tabla 46).

**Tabla 46. Seroprevalencia de toxocariosis en España.** Adaptada de Espinosa-Saavedra *et al.*, 2000.

Comunidad	Nº Muestras	Población	Prevalencia	Año de estudio
<b>Canarias</b>	14074	Total	3,4	1997
<b>Canarias</b>	143	Niños	4,2	1996
	803	Adultos	17,4	
<b>Castilla y León</b>	650	Total	2,4	1989
<b>Cataluña</b>	1018	Total	3,6	1989
<b>Galicia</b>	407	Niños	32,8	1997
		Adultos	23,3	
<b>Madrid</b>	100	Niños	1	1995
<b>Madrid</b>	195	Niños	0	1996
<b>País Vasco</b>	272	Adultos	3,6	1996
	320	Niños (clase media)	4,4	
	91	Niños (clase baja)	37-65,7	

*Toxocara* es un parásito que aparece siempre en todos los estudios epidemiológicos realizados en perros. La frecuencia en nuestro estudio fue del 9,48%, resultados a los encontrados en otros países como Portugal (Neves *et al.*, 2014; Mateus *et al.*, 2014), Francia (Osmana *et al.*, 2015), Argentina (Fontanarrosa *et al.*, 2006), EE.UU (Mohamed *et al.*, 2009) o Sudáfrica (Mukaratirwa & Singh, 2010), pero inferior a los encontrados en Alemania (Barutzki & Schaper, 2003) o Japón (Kimura *et al.*, 2013).

Junto con la procedencia o aptitud del animal, el origen era un factor de riesgo para la parasitación de los animales. En el presente estudio pudieron ser analizadas muestras de perros procedentes de 29 municipios de la provincia de Castellón. Hubo muestras positivas en 24 de las localidades, siendo mayor la prevalencia en Castellón capital, Vinaròs, Xert y Vall d'Uixò. Cuando analizamos los resultados por comarcas, observamos que salvo en el Alto Maestrazgo, en las restantes comarcas el parásito más frecuente era *Giardia*. En el Alto Maestrazgo eran más frecuentes los ancylostomidos, debemos tener en cuenta que esta zona es agrícola y ganadera y muchos de los perros analizados eran ovejeros y de caza. Debemos señalar, además, que en las comarcas agrícolas de la Plana Baja y Plana Alta, *Toxocara* era el segundo parásito más frecuente.

#### **ESTUDIO SOBRE EL IMPACTO SOCIOECONÓMICO DE LOS CASOS HUMANOS QUE PRODUCEN LOS PARÁSITOS INTESTINALES CANINOS EN LA PROVINCIA DE CASTELLÓN**

En cuanto a la casuística en humanos de algunas de las zoonosis parasitarias tratadas en este estudio, en España se observa que en los últimos 10 años, se han reportado casos de giardiosis, criptosporidiosis, blastocistosis, amebiosis e hidatidosis, siendo la giardiosis la enfermedad que más casos produjo en el país. Debe destacarse que, en base a los datos hallados en los diferentes boletines de notificación analizados, tanto nacionales como comunitarios, la fiabilidad de los mismos debería ser optimizada, ya que se observan diferencias notorias entre las distintas fuentes oficiales consultadas para un mismo año y patología. Al respecto, hay que considerar que al menos para el caso de hidatidosis, se ha observado una subnotificación. Esto último concuerda con lo observado por Carmena *et al.* (2010) en cuyo estudio cuestionan la eficacia del sistema de vigilancia epidemiológica para hidatidosis. Dicho esto, y como una limitación más del estudio, los resultados obtenidos en este trabajo deben ser tomados como “valores mínimos”.

Con relación al impacto de giardiosis, criptosporidiosis e hidatidosis según edad y sexo, se observa que las dos primeras afectan principalmente a individuos en edad pediátrica. Para giardiosis durante los últimos 10 años, la mayor prevalencia se ha dado en edades comprendidas entre 0 y 14 años, con un máximo de un 64% de casos en este rango de edad, de entre todos los casos del año 2014. Para el caso de criptosporidiosis, disminuye ligeramente el rango de edad afectado hasta los 9 años de edad, con un máximo impacto en la casuística de casos en este grupo, durante el año 2009, de un 91% de los casos, sobre el total reportado en dicho año. Y, para hidatidosis, el grupo etario más afectado es la población de más de 45 años, con un máximo impacto en esta fracción de la población, durante el año 2009 del 80,5% de los casos. Con respecto a la variable sexo, se observa que tanto giardiosis como criptosporidiosis han afectado de manera similar a ambos sexos durante el periodo analizado, mientras que la hidatidosis, por lo general, presenta una leve inclinación al sexo femenino. El comportamiento respecto a las variables de edad y sexo, se corresponde con la epidemiología general usualmente descrita para estas zoonosis.

En relación a la Comunidad Valenciana, a partir de los datos reportados desde 2014, se mantiene la giardiosis como primera fuente de casos de zoonosis parasitarias en humanos. Para ese año, el número de casos humanos de esta enfermedad representó el 43% de los casos reportados a nivel nacional. Por otro lado, la criptosporidiosis y la hidatidosis representaron el 27,5% y el 19% de los casos reportados, respectivamente. Considerando que España está constituida por 17 comunidades autónomas, se puede estimar que, aproximadamente la mitad de los casos de giardiosis, una tercera parte de los casos de criptosporidiosis y la quinta parte de los casos de hidatidosis producidos en el país, han sido originados en la Comunidad Valenciana, ocupando ésta, por tanto, un lugar de importancia en la casuística humana de estas zoonosis. En particular para el caso de hidatidosis, la incidencia anual de casos humanos desde el año 2006 supera ampliamente la incidencia media anual española, lo cual podría deberse bien a una mejora en el sistema de notificación o bien apuntar a una posible re-emergencia de la patología en la región. Si bien para corroborar ésta última hipótesis, sería necesario llevar adelante estudios basados en registros de historias clínicas para diferenciar el

origen del caso, en cuanto que sea autóctono o importado; información que no figura en los boletines oficiales analizados en la presente tesis.

Los costes por paciente derivados de la atención sanitaria y absentismo laboral y pérdida de productividad en la Comunidad Valenciana, duplican los reportados para otras regiones endémicas de hidatidosis (Fica & Weitzel, 2014). Para giardosis, los costes sanitarios directos y costes indirectos y totales calculados en el presente estudio, representan los primeros datos al respecto para pacientes ambulatorios y pacientes hospitalizados, contándose con un único antecedente publicado al respecto, de Turrientes *et al.* (2003). En dicho estudio se estimaron solo los costes de laboratorio de diagnóstico de parasitosis derivados de la atención de población inmigrante, por lo que no son datos comparables entre sí. Con relación a la carga de enfermedad en términos de AVAD que representan las dos parasitosis gastrointestinales estudiadas, se observa que para criptosporidiosis la determinada (0,15 AVAD) en este trabajo es comparable a la estimada en el estudio de OMS (Kirk *et al.*, 2015, 0,2 AVAD), mientras que para giardosis es llamativamente mayor (5,8 AVAD frente a 0,03 AVAD).

Si bien en las fuentes de datos analizadas no se discriminan los datos por provincia, lo cual no hace posible conocer de forma precisa la proporción de casos procedentes de la provincia de Castellón (a excepción de hidatidosis para algunos años), sí se puede afirmar, a partir de este estudio, que circulan en la región las especies parasitarias *G. intestinalis* (*assemblages* zoonóticos A y B) y *Cryptosporidium* spp. causantes de estas patologías, quedando pendiente de confirmación en futuros estudios la identificación de los huevos de Taeniidae hallados, como posibles *Echinococcus* spp.

## CONCLUSIONES

---





1. Las poblaciones de perros analizadas representan una importante fuente de contaminación ambiental por huevos, larvas, quistes y oocistos de un gran número de especies parasitarias de relevancia en salud pública veterinaria.
2. Las variables “estatus o aptitud” y “origen geográfico” presentan una asociación significativamente estadística con la parasitación de los perros objeto de estudio.
3. La alta prevalencia de *G. intestinalis* hallada en la población canina investigada es indicativa de una elevada presión infectiva en la provincia de Castellón. Esta situación epidemiológica explicaría la elevada diversidad genotípica hallada en los aislados estudiados, así como el elevado número de infecciones mixtas causadas por diferentes ensamblajes/sub-ensamblajes del parásito.
4. Las poblaciones de perros analizadas pueden actuar como reservorio natural de ensamblajes/sub-ensamblajes de *Giardia intestinalis* potencialmente infectivas para el hombre. Este punto debe ser confirmado en estudios epidemiológicos moleculares incluyendo poblaciones humanas provenientes de esta área geográfica.
5. Las variantes genéticas de *Giardia intestinalis* caracterizadas en este estudio difieren poco de las documentadas en otras regiones españolas, indicando que la divergencia evolutiva hallada ha sido un fenómeno relativamente reciente.
6. De entre las zoonosis de notificación obligatoria se han reportado hasta 2014 casos humanos de giardosis, criptosporidiosis e hidatidosis en la Comunidad Valenciana, siendo la giardosis la que presentó el mayor número, seguida por la criptosporidiosis e hidatidosis. Para las tres patologías la Comunidad Valenciana representa un importante aporte de casos humanos dentro del escenario español, superando en algunos casos (hidatidosis), la incidencia anual a nivel nacional.

7. Se ha estimado por primera vez para la Comunidad Valenciana el coste por paciente de zoonosis de notificación obligatoria, siendo para el caso de hidatidosis de al menos 8.924,34€/paciente y para el caso de giardiosis al menos de 1068,14 €/paciente-ambulatorio y 8601,85€/paciente-hospitalizados.
  
8. Para la Comunidad Valenciana, estas tres zoonosis representan una importante carga de enfermedad en términos de costes sanitarios directos, pérdida de productividad y de años de vida saludables, comparable e incluso superiores a los reportados en otras regiones endémicas del mundo.

## BIBLIOGRAFÍA

---



**Abere T, Bogale B, Melaku A.** Gastrointestinal helminth parasites of pet and stray dogs as a potential risk for human health in Bahir Dar town, north-western Ethiopia. *Vet World*. 2013; 6(7):388-392.

**Abubakar S, Teoh BT, Sam SS, Chang LY, Johari J, Hooi PS, Lakhbeer-Singh HK, Italiano CM, Omar SF, Wong KT, Ramli N, Tan CT.** Outbreak of human infection with *Sarcocystis nesbitti*, Malaysia, 2012. *Emerg Infect Dis*. 2013; 19(12):1989-1991.

**Acosta L, León-Quinto T, Bornay-Llinares FJ, Simón MA, Esteban JG.** Helminth parasites in faecal samples from the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Vet Parasitol*. 2011; 179(1-3):175-179.

**Adam RD.** Biology of *Giardia lamblia*. *Clin Microbiol Rev*. 2001; 14: 447-475.

**Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.** Ficha técnica y prospecto de Eskazole®, [consultado 20 enero 2017] disponible en <https://www.aemps.gob.es/cima/>.

**Alexander KA, Lewis BL, Marathe M, Eubank S, Blackburn JK.** Modeling of wildlife-associated zoonoses: Applications and caveats. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2012; 12: 1005-1018.

**Alfellani MA, Taner-Mulla D, Jacob AS, Imeede CA, Yoshikawa H, Stensvold CR, Clark CG.** Genetic diversity of *Blastocystis* in livestock and zoo animals. *Protist*. 2013; 164(4):497-509.

**Allan JC, Craig PS.** Coproantigens in taeniasis and echinococcosis. *Parasitol Int*. 2006; 55:S75-80.

**Almqvist C, Egmar AC, Hedlin G, Lundqvist M, Nordvall SL, Pershagen G, Svartengren M, van Hage-Hamsten M, Wickman M.** Direct and indirect exposure to pets – risk of sensitization and asthma at 4 years in a birth cohort. *Clin Exp Allergy*, 2003; 33(9):1190.

**Álvarez Martín E.** Caso práctico de carga de enfermedad [Internet]. Madrid: Esc Nac Sanidad; 2012 [consultado 23 enero 2017]. Tema 3.5. Disponible en: <http://www.sidastudi.org/resources/inmagic-img/DD25007.pdf>

**Alvarez Rojas CA, Romig T, Lightowlers MW.** *Echinococcus granulosus sensu lato* genotypes infecting humans--review of current knowledge. *Int J Parasitol*. 2014; 44(1):9-18.

**American Veterinary Medical Association.** One Health: A New Professional Imperative. One Health Initiative Task Force: Final Report, 2008. (Disponible en: [https://www.avma.org/KB/Resources/Reports/Documents/onehealth\\_final.pdf](https://www.avma.org/KB/Resources/Reports/Documents/onehealth_final.pdf)).

**Andersen LO & Stensvold CR.** *Blastocystis* in Health and Disease: Are We Moving from a Clinical to a Public Health Perspective? *J Clin Microbiol*. 2016; 54(3):524-528.

**Aquino Mariano JM, Vargas Sánchez GB, López Martínez B, Neri Spinola E, Bernal Redondo R.** Comparación de dos nuevas técnicas de sedimentación y métodos convencionales para la recuperación de parásitos intestinales. *Rev Latinoamer Patol Clin*. 2012; 59(4): 233-242.

**Awoke E, Bogale B, Chanie M.** Intestinal nematode parasites of dogs: prevalence and associated risk factors. *Int J Animal Vet Advances*. 2011; 3(5): 374-378.

**Azam D, Ukpai OM, Said A, Abd-Allah GA, Morgan ER.** Temperature and the development and survival of infective *Toxocara canis* larvae. *Parasitol Res*. 2012; 110(2):649-656.

**Baneth G, Thamsborg SM, Otranto D, Guillot J, Blaga R, Deplazes P, Solano-Gallego L.** Major Parasitic Zoonoses Associated with Dogs and Cats in Europe. *J Comp Pathol.* 2016; 155(1 Suppl 1):S54-74.

**Barr BC, Anderson ML, Woods LW, Dubey JP, Conrad PA.** *Neospora*-like protozoal infections associated with abortion in goats. *J Vet Diagn Invest.* 1992; 4(3):365-367.

**Barutzki D & Schaper R.** Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999-2002. *Parasitol Res.* 2003; 90 Suppl 3:S148-50.

**Batchelor DJ, Tzannes S, Graham PA, Wastling JM, Pinchbeck GL, German AJ.** Detection of endoparasites with zoonotic potential in dogs with gastrointestinal disease in the UK. *Transbound Emerg Dis.* 2008; 55(2):99-104.

**Beér SA, Novosil'tsev GI, Mel'nikova LI.** The role of the water factor in the dissemination of *Toxocara* eggs and the spread of toxocariasis in a megalopolis. *Parazitologiya.* 1999; 33(2):129-135.

**Benito A, Carmena D, Postigo I, Estibalez JJ, Martínez J, Guisantes JA.** Intestinal helminths in dogs in Alava, North of Spain. *Rev Ibérica Parasitol.* 2003; 63 (3-4), 121-126.

**Benito A, Carmena D, Joseph L, Martínez J, Guisantes JA.** Dog echinococcosis in northern Spain: comparison of coproantigen and serum antibody assays with coprological exam. *Vet Parasitol.* 2006; 142(1-2):102-111.

**Benner C, Carabin H, Sánchez-Serrano LP, Budke CM, Carmena D.** Analysis of the economic impact of cystic echinococcosis in Spain. *Bull World Health Organ.* 2010; 88(1):49-57.

**Bethony J, Brooker S, Albanico M, Geiger SM, Loukas A, Diemert D, Hoetz PJ.** Soil-transmitted helminthic infections: ascariasis, trichuriasis and hookworm. *Lancet.* 2006; 367, 1521–1532.

**Beugnet F, Labuschagne M, Fourie J, Jacques G, Farkas R, Cozma V, Halos L, Hellmann K, Knaus M, Rehbein S.** Occurrence of *Dipylidium caninum* in fleas from client-owned cats and dogs in Europe using a new PCR detection assay. *Vet Parasitol.* 2014; 205(1-2): 300-306.

**Blake DP & Betson M.** One Health: parasites and beyond. *Parasitology.* 2017; 144(1):1-6.

**Blanco Mendez, MA.** Detección y caracterización molecular de especies de *Cryptosporidium* procedentes de humanos. Aplicación en estudios clínicos y epidemiológicos [tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacia; 2010.

**Boletines epidemiológicos semanales del Centro Nacional de Microbiología.** [Consultado el 10 enero 2017] Disponibles en: <http://revista.isciii.es/index.php/bes/issue/archive>.

**Boletín Oficial del Estado.** Orden SSI/445/2015, de 9 de marzo, por la que se modifican los anexos I, II y III del Real Decreto 2210/1995, de 28 de diciembre, por el que se crea la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, relativos a la lista de enfermedades de declaración obligatoria, modalidades de declaración y enfermedades endémicas de ámbito regional.

**Bowman DD.** *Georgi's Parasitology for Veterinarians.* 9th edition. Philadelphia, USA: Saunders Company; 2009.

**Bowman DD & Lucio-Forster A.** Cryptosporidiosis and giardiasis in dogs and cats: veterinary and public health importance. *Exp Parasitol.* 2010; 124(1):121-127.



**Bowman DD, Montgomery SP, Zajac AM, Eberhard ML, Kazacos KR.** Hookworms of dogs and cats as agents of cutaneous larva migrans. *Trends Parasitol.* 2010; 26(4):162-167.

**Bugg RJ, Robertson ID, Elliot AD, Thompson CA.** Gastrointestinal parasites of urban dogs in Perth, Western Australia. *Vet J.* 1999; 157:295–301.

**Bygott JM & Chiodini PL.** Praziquantel: Neglected drug? Ineffective treatment? Or therapeutic choice in cystic hydatid disease? *Acta Trop.* 2009; 111(2):95-101.

**Cabello RR, Ruiz AC, Feregrino RR, Romero LC, Feregrino RR, Zavala JT.** *Dipylidium caninum* infection. *BMJ Case Rep,* 2011.

**Caccio SM.** Molecular epidemiology of human cryptosporidiosis. *Parassitologia.* 2005; 47: 185–192.

**Carabin H, Balsera-Rodríguez FJ, Rebollar-Sáenz J, Benner CT, Benito A, Fernández-Crespo JC, Carmena D.** Cystic Echinococcosis in the Province of Álava, North Spain: The Monetary Burden of a Disease No Longer under Surveillance. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014; 8(8):1-14.

**Carmena D, Aguinagalde X, Zigorraga C, Fernandez-Crespo JC, Ocio JA.** Presence of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in drinking water supplies in northern Spain. *J Appl Microbiol.* 2007; 102:619–629.

**Carreno RA, Martin DS, J Barta.** *Cryptosporidium* is more closely related to the gregarines than to coccidia as shown by phylogenetic analysis of apicomplexan parasites inferred using small subunit ribosomal RNA gene sequences. *Parasitol Res.* 1999; 85(11): 899-904.

**Castro C, de Oliveira JB, Hernández J, Jiménez A, Jiménez M.** Contaminación por parásitos gastrointestinales de caninos en dieciocho playas del Pacífico Central de Costa Rica: implicaciones para la salud pública. *Cienc Vet.* 2009; 27 (2): 47-56.

**Castro-Hermida JA, Garcia-Presedo I, Almeida A, Gonzalez-Warleta M, Correia Da Costa JM, Mezo M.** Contribution of treated wastewater to the contamination of recreational river areas with *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis*. *Water Res.* 2008; 42:3528–3538.

**Causapé AC, Quílez J, Sánchez-Acedo C, del Cacho E.** Prevalence of intestinal parasites, including *Cryptosporidium parvum*, in dogs in Zaragoza city, Spain. *Vet Parasitol.* 1996: 67(3-4):161-167.

**Cavalier-Smith T.** A revised six-kingdom system of life. *Biol Rev.* 1998; 73(3):203

**Cavalier-Smith T.** Only six kingdoms of life. *Proc Biol Sci.* 2004; 271(1545): 1251-1262.

**Cavalier-Smith T & Chao EE.** Phylogeny of choanozoa, apusozoa, and other protozoa and early eukaryote megaevolution. *J Mol Evol.* 2003; 56(5): 540-563.

**Centers For Disease Control and Prevention.** Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/az.html>.

**Chapman J, Mense M, Dubey JP.** Clinical muscular sarcocystosis in a dog. *J Parasitol.* 2005; 91(1):187-190.

**Chomel BB, Belotto A, Meslin FX.** Wildlife, exotic pets, and emerging zoonoses. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13: 6-11.

**Chomel BB & Sun B.** Zoonoses in the bedroom. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(2):167-172.

**Claerebout E, Casaert S, Dalemans AC, De Wilde N, Levecke B, Vercruyse J, Geurden T.** *Giardia* and other intestinal parasites in different dog populations in Northern Belgium. *Vet Parasitol.* 2009; 161(1-2):41-46.

**Cordero del Campillo M & Rojo Vázquez FA.** *Parasitología Veterinaria.* Ed. McGraw-Hill, Interamericana, 1999. Madrid.

**Dado D, Izquierdo F, Vera O, Montoya A, Mateo M, Fenoy S, Galván AL, García S, García A, Aránguez E, López L, del Águila C, Miró G.** Detection of zoonotic intestinal parasites in public parks of Spain. Potential epidemiological role of microsporidia. *Zoonoses Public Health.* 2012a; 59(1):23-28.

**Dado D, Montoya A, Blanco MA, Miró G, Saugar JM, Bailo B, Fuentes I.** Prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* from dogs in Spain: possible zoonotic transmission and public health importance. *Parasitol Res.* 2012b; 111(6):2419-2422.

**De Lucio A, Martínez-Ruiz R, Merino FJ, Bailo B, Aguilera M, Fuentes I, Carmena D.** Molecular genotyping of *Giardia duodenalis* isolates from symptomatic individuals attending two major public hospitals in Madrid, Spain. *PLoS One.* 2015; 10(12):e0143981.

**De Lucio A, Bailo B, Aguilera M, Cardona GA, Fernández-Crespo JC, Carmena D.** No molecular epidemiological evidence supporting household transmission of zoonotic *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. from pet dogs and cats in the province of Álava, Northern Spain. *Acta Trop.* 2017; 170: 48-56.

**De Turrientes M, Huerga H, López-Vélez R.** Coste económico y carga asistencial en el laboratorio de parasitología derivados de la atención al inmigrante. *Enferm Infec Micr Cl.* 2003; 21(4): 188-192.

**Del Coco V, Molina NB, Basualdo JA; Córdoba MA.** *Blastocystis* spp.: Advances, controversies and future challenges. *Rev Arg Microbiol.* 2017; 49 (1): 110–118.

**Diari Oficial de la Comunitat Valenciana. Establecimiento de la veda de caza de especies cinegéticas.** ORDEN 16/2016, de 13 de julio, de la Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural, por la que se fijan, para la temporada 2016-2017, los períodos hábiles y normas de caza en las zonas comunes y se establecen otras regulaciones en los cotos de caza y zonas de caza controlada en la Comunitat Valenciana. [consultado 2 febrero 2017] Disponible en <http://www.dogv.gva.es/>.

**Diari Oficial de la Generalitat Valenciana. Establecimiento de fechas, normas y condiciones de la caza mayor del jabalí.** ORDEN 3/2012, de 19 de enero, de la Conselleria de Infraestructuras, Territorio y Medio Ambiente, por la que se regula la caza y control del jabalí en la Comunitat Valenciana. [consultado 2 febrero 2017] Disponible en <http://www.dogv.gva.es/>.

**Díaz V, Campos M, Lozano J, Mañas I, González J.** Aspects of animal giardiasis in Granada province (southern Spain). *Vet Parasitol.* 1996; 64(3):171-176.

**Díaz Videla M & Olarte MA.** Animales de compañía, personalidad humana y los beneficios percibidos por los custodios. *Psiencia.* 2016; 8(2):1-19.

**Dirección General de Salud Pública. Consejería de Sanidad. Salud Ambiental, zoonosis.** [Consultado el 17 abril 2016] Disponible en <http://www.madrid.org/>.

**Driscoll CA, Macdonald DW, O'Brien SJ.** From wild animals to domestic pets, an evolutionary view of domestication. *Proc Natl Acad Sci.* 2009; 106 (Suppl 1):9971-9978.

**Dubey JP, Hattel AL, Lindsay DS, Topper MJ.** Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J Am Vet Med Assoc.* 1988a; 193(10):1259-1263.

**Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A.** Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1988b; 192(9):1269-1285.

**Dubey JP, Speer CA, Charleston WA.** Ultrastructural differentiation between sarcocysts of *Sarcocystis hirsuta* and *Sarcocystis hominis*. *Vet Parasitol.* 1989; 34(1-2):153-157.

**Dubey JP & Lindsay DS.** A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol.* 1996a; 67(1-2):1-59.

**Dubey JP, Morales JA, Villalobos P, Lindsay DS, Blagburn BL, Topper MJ.** Neosporosis-associated abortion in a dairy goat. *J Am Vet Med Assoc.* 1996b; 208(2):263-265.

**Dubey JP & Odening K.** 2001. Toxoplasmosis and related infections. *In:* Samuel, W. M., M. J. Pybus, and A. A. Kocan (eds.). *Parasitic Diseases of Wild Mammals*, 6th ed. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa. Pp. 479–494.

**Dubey JP, Chapman JL, Rosenthal BM, Mense M, Schueler RL.** Clinical *Sarcocystis neurona*, *Sarcocystis canis*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* infections in dogs. *Vet Parasitol.* 2006a; 137(1-2):36-49.

**Dubey JP, Lindsay DS.** Neosporosis, toxoplasmosis, and sarcocystosis in ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2006b; 22(3):645-671.

**Dubey JP, Black SS, Verma SK, Calero-Bernal R, Morris E, Hanson MA, Cooley AJ.** *Sarcocystis neurona* schizonts-associated encephalitis, chorioretinitis, and myositis in a two-month-old dog simulating toxoplasmosis, and presence of mature sarcocysts in muscles. *Vet Parasitol.* 2014; 202(3-4):194-200.

**Dubey JP, Sykes JE, Shelton GD, Sharp N, Verma SK, Calero-Bernal R, Viviano J, Sundar N, Khan A, Grigg ME.** *Sarcocystis caninum* and *Sarcocystis svanai* n. spp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) Associated with Severe Myositis and Hepatitis in the Domestic Dog (*Canis familiaris*). *J Eukaryot Microbiol.* 2015; 62(3):307-317.

**Duda A, Stenzel DJ, Boreham PF.** Detection of *Blastocystis* sp. in domestic dogs and cats. Vet Parasitol. 1998; 76(1-2):9-17.

**Eckert J & Deplazes P.** Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clin Microbiol Rev. 2004; 17(1):107-135.

**Encuesta de Estructura Salarial.** Avance de resultados. Instituto Nacional de Estadística. 28 junio 2016. 1-10.

**Erlandsen SL & Bemrick WJ.** SEM evidence for a new species, *Giardia psittaci*. J Parasitol. 1987; 73(3):623-629.

**Esch KJ & Petersen CA.** Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal diseases of companion animals. Clin Microbiol Rev. 2013; 26(1):58-85.

**Espinoza Saavedra, Pérez Arellano JL, Sánchez Martín MM, Muro Álvarez A.** Parasitosis de interés en nuestro medio: aspectos actuales de la toxocariosis humana Med Integr 2000; 36(10):387-395.

**Estrada-Peña A, Ostfeld RS, Peterson AT, Poulin R, de la Fuente J.** Effects of environmental change on zoonotic disease risk: an ecological primer. Trends Parasitol, 2014. 30(4):205-214.

**Fan CK, Liao CW, Cheng YC.** Factors affecting disease manifestation of toxocarosis in humans: genetics and environment. Vet Parasitol. 2013; 193(4):342-352.

**Faust EC & Kagy ES.** Experimental studies on human and primate species of *Strongyloides*. I. The variability and instability of types. Am J Trop Med. 1933; 12: 47–65.

**Fayer R.** *Sarcocystis* spp. in human infections. Clin Microbiol Rev. 2004; 17(4):894-902.

**Fayer R.** Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp Parasitol.* 2009; 124(1):90-7.

**Fayer R, Esposito DH, Dubey JP.** Human infections with *Sarcocystis* species. *Clin Microbiol Rev.* 2015; 28(2):295-311.

**Feng Y & Xiao L.** Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin. Microbiol Rev.* 2011; 24(1):110.

**Fenoy S, Cuéllar C, Guillén JL.** Seroprevalence of toxocariasis in children and adults in Madrid and Tenerife, Spain. *J Helminthol.* 1996; 70: 109-113.

**Fenoy S, Cuéllar C, Guillén JL.** Serological evidence of toxocariasis in patients from Spain with a clinical suspicion of visceral larva migrans. *J Helminthol.* 1997; 71(1):9-12.

**Fernández-Álvarez Á, Martín-Alonso A, Abreu-Acosta N, Feliu C, Hugot JP, Valladares B, Foronda P.** Identification of a novel assemblage G subgenotype and a zoonotic assemblage B in rodent isolates of *Giardia duodenalis* in the Canary Islands, Spain. *Parasitology.* 2014; 141(2):206-215.

**Fontanarrosa MF, Vezzani D, Basabe J, Eiras DF.** An epidemiological study of gastrointestinal parasites of dogs from Southern Greater Buenos Aires (Argentina): age, gender, breed, mixed infections, and seasonal and spatial patterns. *Vet Parasitol.* 2006; 136 (3-4): 283-295.

**Fundación Affinity.**

<http://213.165.71.127/affinity/www/sites/default/files/saladeprensa/notasdeprensa/fichero/NDPEstudioFundacionAffinityAbandono2010.pdf> [Fecha de acceso 8 octubre 2014].

**Galván AL, Magnet A, Izquierdo F, Fernández Vadillo C, Peralta RH, Angulo S, Fenoy S, del Aguila C.** A year-long study of *Cryptosporidium* species and subtypes in recreational,

drinking and wastewater from the central area of Spain. *Sci Total Environ.* 2014; 468-469:368-375.

**Gates MC, Nolan TJ.** Comparison of passive fecal flotation run by veterinary students to zinc-sulfate centrifugation flotation run in a diagnostic parasitology laboratory. *J Parasitol.* 2009; 95(5):1213-4.

**GBD Group 2015.** Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet.* 2016; 388(10053):1545-1602.

**Geary DC.** Evolution and development of folk knowledge: Implications for children's learning. *Infancia y aprendizaje.* 2003; 26(3):287-308

**Genta RM.** *Strongyloides stercoralis*: loss of ability to disseminate after repeated passage in laboratory beagles. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1989; 83(4):539-41.

**Gibney KB, O'Toole J, Sinclair M, Leder K.** Disease burden of selected gastrointestinal pathogens in Australia, 2010. *Int J Infect Dis.* 2014; 28:176-185.

**Gil H, Cano L, de Lucio A, Bailo B, de Mingo MH, Cardona GA, Fernández-Basterra JA, Aramburu-Aguirre J, López-Molina N, Carmena D.** Detection and molecular diversity of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in sheltered dogs and cats in Northern Spain. *Infect Genet Evol.* 2017; 50: 62-69.

**Gómez-Couso H, Freire-Santos F, Martínez-Urtaza J, García-Martín O, Ares-Mazas ME.** Contamination of bivalve molluscs by *Cryptosporidium* oocysts: the need for new quality control standards. *Int J Food Microbiol.* 2003; 87:97–105

**Gondim LF, McAllister MM, Pitt WC, Zemlicka DE.** Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.* 2004; 34(2):159-161.



**González A, Gallo M, Valls EM, Muñoz J, Puyol L, Pinazo MJ, Mas J, Gascón J.** Clinical and epidemiological features of 33 imported *Strongyloides stercoralis* infections. *Trans R Soc Trop Med.* 2010; 104: 613–616.

**González Ramírez MT & Hernández RL.** Diferencias en estrés percibido, salud mental y física de acuerdo al tipo de relación humano-perro. *Rev Colomb Psicol.* 2011; 20(1):75-86.

**Goodwin R, Schley D, Lai KM, Ceddia GM, Barnett J, Cook N.** Interdisciplinary approaches to zoonotic disease. *Infect Dis Rep.* 2012; 4(2):e37.

**Grosso G, Gruttadauria S, Biondi A, Marventano S, Mistretta A.** Worldwide epidemiology of liver hydatidosis including the Mediterranean area. *World J Gastroenterol.* 2012; 18(13):1425-1437.

**Guía de actuación frente a las zoonosis en la Comunidad de Madrid.** Documentos Técnicos de Salud Pública.

<http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Content-Disposition&blobheadervalue1=filename%3DDocumenCompl-2363.pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1220443496558&ssbinary=true>. [Fecha de acceso 10 octubre 2014].

**Guía y recomendaciones para la realización y presentación de evaluaciones económicas y análisis de impacto presupuestario de medicamentos en el ámbito del CatSalut.** Versión 1.0. Servei català de Salut (CatSalut), 2014. [consultado 30 mayo 2016].

**Gultekin M, Ural K, Aysul N, Ayan A, Balikci C, Akyildiz G.** Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* in dogs in Aydin, Turkey. *Int J Environ Health Res.* 2017; 4: 1-8.

**Gürler AT, Bölükbas CS, Pekmezci GZ, Umur S, Açıci M.** Nematode and cestode eggs scattered with cats-dogs feces and significance of public health in Samsun, Turkey. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 2015; 62(1):23-26.

**Haque R, Roy S, Kabir M, Stroup SE, Mondal D, Houpt ER.** *Giardia* assemblage A infection and diarrhea in Bangladesh. J Infect Dis. 2005; 192(12):2171-3.

**Hascall KL, Kass PH, Saksen J, Ahlmann A, Scorza AV, Lappin MR, Marks SL.** Prevalence of enteropathogens in dogs attending 3 regional dog Parks in Northern California. J Vet Intern Med. 2016; 30(6):1838-1845.

**Herrador Z, Siles-Lucas M, Aparicio P, Lopez-Velez R, Gherasim A, Gárate T, et al.** Cystic echinococcosis epidemiology in Spain based on hospitalization records, 1997-2012. PLoS Negl Trop Dis, 2016. 10(8): 1-15.

**Heyworth MF.** *Giardia duodenalis* genetic assemblages and hosts. Parasite. 2016; 23:13.

**Holland CV, Smith HV.** Toxocara: The Enigmatic Parasite. Wallingford, UK: CABI Publishing; 2006.

**Hotez PJ.** Neglected infections of poverty in the United States of America. PLoS Negl Trop Dis. 2008; 2(6):e256.

**Huber F, da Silva S, Bomfim TCB, Teixeira KRS, Bello AR.** Genotypic characterization and phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* sp. from domestic animals in Brazil. Vet Parasitol. 2007; 150(1):65-74.

**Hugues HB, Álvarez AA, Castelo ECL, Ledón LL, Mendoza TM, Domínguez AEE.** Percepción de los Beneficios de la Tenencia de Animales de Compañía en Personas con Problemas de Infertilidad. Rev Investig Vet Perú. 2015; 01; 26(1):36-42.

**Hüttner M, Nakao M, Wassermann T, Siefert L, Boomker JD, Dinkel A, Sako Y, Mackenstedt U, Romig T, Ito A.** Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* Ortlepp, 1937 (Cestoda: Taeniidae) from the African lion. *Int J Parasitol.* 2008; 38: 861-869.

**Ing MB, Schantz PM, Turner JA.** Human coenurosis in North America: case reports and review. *Clin Infect Dis.* 1998; 27(3):519-23.

**Inpankaew T, Schär F, Odermatt P, Dalsgaard A, Chimnoi W, Khieu V, Muth S, Traub RJ.** Low risk for transmission of zoonotic *Giardia duodenalis* from dogs to humans in rural Cambodia. *Parasit Vectors.* 2014; 7:412.

**Jacinto E, Aponte E, Arrunátegui-Correa V.** Prevalencia de parásitos intestinales en niños de diferentes niveles de educación del distrito de San Marcos, Ancash, Perú. *Rev Med Hered.* 2012; 23(4):235-239.

**Jacobs DE, Zhu X, Gasser RB, Chilton NB.** PCR-based methods for identification of potentially zoonotic ascaridoid parasites of the dog, fox and cat. *Acta Trop.* 1997; 68(2):191-200.

**Jara CA, Minchón-Medina CA, Zárate-Asmat C.** Comparación de las técnicas de Willis y de Sheather para el diagnóstico coproparasitológico. *Rebiol.* 2007; 27 (1-2):1-6.

**Jenkins EJ, Castrodale LJ, de Rosemond SJ, Dixon BR, Elmore SA, Gesy KM, Hoberg EP, Polley L, Schurer JM, Simard M, Thompson RC.** Tradition and transition: parasitic zoonoses of people and animals in Alaska, northern Canada, and Greenland. *Adv Parasitol.* 2013; 82: 33-204.

**Jiménez S, Perez A, Gil H, Schantz PM, Ramalle E, Juste RA.** Progress in control of cystic echinococcosis in La Rioja, Spain: decline in infection prevalences in human and animal hosts and economic costs and benefits. *Acta Trop.* 2002; 83:213–221.

**Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, Daszak P.** Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*. 2008; 451: 990-993.

**Kagei N, Hayashi S, Kato K.** Human cases of infection with canine whipworms, *Trichuris vulpis* (Froelich, 1789), in Japan. *J Med Sci Biol*. 1986; 39:177-184.

**Kahn LH, Kaplan B, Steele JH.** Confronting zoonoses through closer collaboration between medicine and veterinary medicine (as 'one medicine'). *Vet Ital*. 2007; 43(1):5-19.

**Kaplan JE, Masur H, Holmes KK.** Guidelines for preventing opportunistic infections among HIV-infected persons. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2002; 51 (RR08): 1-46.

**Katsumata T, Hosea D, Ranuh IG, Uga S, Yanagi T, Kohno S.** Short report: possible *Cryptosporidium muris* infection in humans. *Am J Trop Med Hyg*. 2000; 62:70–72.

**Kimura M.** A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol*. 1980; 16(2):111-120.

**Kirk MD, Pires SM, Black RE, Caipo M, Crump JA, Devleeschauwer B, Döpfer D, Fazil A, Fischer-Walker CL, Hald T, Hall AJ, Keddy KH, Lake RJ, Lanata CF, Torgerson PR, Havelaar AH, Angulo FJ.** World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: A Data Synthesis. *PLoS Med*. 2015 Dec 3;12(12):e1001921.

**Klimpel S, Heukelbach J, Pothmann D, Rückert S.** Gastrointestinal and ectoparasites from urban stray dogs in Fortaleza (Brazil): high infection risk for humans? *Parasitol Res*. 2010; 107(3):713-719.

**Kostopoulou D, Claerebout E, Arvanitis D, Ligda P, Voutzourakis N, Casaert S, Sotiraki S.** Abundance, zoonotic potential and risk factors of intestinal parasitism amongst dog and cat populations: The scenario of Crete, Greece. *Parasit Vectors*. 2017; 10(1):43.

**Kruse H, Kirkemo AM, Handeland K.** Wildlife as source of zoonotic infections. *Emerg Infect Dis*. 2004; 10: 2067-2072.

**Lahmar S & Kilani M.** Frequency distributions of *Echinococcus granulosus* and other helminthes in stray dogs in Tunisia. *An Trop Med Par*. 2001; 95 (1): 69-76.

**Lalle M, Pozio E, Capelli G, Bruschi F, Crotti D, Cacciò SM.** Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Int J Parasitol*. 2005; 35:207–213.

**Lasek-Nesselquist E, Welch DM, Sogin ML.** The identification of a new *Giardia duodenalis* assemblage in marine vertebrates and a preliminary analysis of *G. duodenalis* population biology in marine systems. *Int J Parasitol*. 2010; 40(9):1063-1074.

**Le TH, De NV, Agatsuma T, Thi Nguyen TG, Nguyen QD, McManus DP, Blair D.** Human fascioliasis and the presence of hybrid/introgressed forms of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* in Vietnam. *Int J Parasitol*. 2008; 38(6):725-30.

**Lebbad M, Ankarklev J, Tellez A, Leiva B, Andersson JO, Svärd S.** Dominance of *Giardia* assemblage B in León, Nicaragua. *Acta Trop*. 2008; 106(1):44-53.

**Lebbad M, Petersson I, Karlsson L, Botero-Kleiven S, Andersson JO, Svenungsson B, Svärd SG.** Multilocus genotyping of human *Giardia* isolates suggests limited zoonotic transmission and association between assemblage B and flatulence in children. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011; 5(8):e1262.

**Leger E, Webster JP.** Hybridizations within the Genus *Schistosoma*: implications for evolution, epidemiology and control. *Parasitology*. 2017; 144(1):65-80.

**Leoni F, Amar C, Nichols G, Pedraza-Diaz S, McLauchlin J.** Genetic analysis of *Cryptosporidium* from 2414 humans with diarrhoea in England between 1985 and 2000. J Med Microbiol. 2006; 55: 703–707.

**Lescano AG, Zunt J.** Other cestodes: sparganosis, coenurosis and *Taenia crassiceps* cysticercosis. Handb Clin Neurol. 2013; 114:335-345.

**Ley de Medidas Fiscales, de Gestión Administrativa y Financiera, y de Organización de la Generalitat Valenciana.** Número 7432 de 22 de diciembre de 2014. [consultado 5 octubre 2016] Disponible en: [http://www.dogv.gva.es/datos/2016/12/31/pdf/2016\\_10576.pdf](http://www.dogv.gva.es/datos/2016/12/31/pdf/2016_10576.pdf).

**Ley de Tasas de la Generalitat Valenciana.** Decreto legislativo 1/2005, de 25 de febrero de 2015. [consultado 5 octubre 2016]. Disponible en [http://www.dogv.gva.es/datos/2016/12/31/pdf/2016\\_10576.pdf](http://www.dogv.gva.es/datos/2016/12/31/pdf/2016_10576.pdf).

**Lindsay DS, Steinberg H, Dubielzig RR, Semrad SD, Konkle DM, Miller PE, Blagburn BL.** Central nervous system neosporosis in a foal. J Vet Diagn Invest. 1996; 8(4):507-10.

**Lindsay DS, Dubey JP, Blagburn BL.** Biology of *Isoospora* spp. from humans, non human primates, and domestic animals. Clin Microbiol Rev. 1997; 10(1):19-34.

**Macpherson CN.** The epidemiology and public health importance of toxocariasis: a zoonosis of global importance. Int J Parasitol. 2013; 43(12-13):999-1008.

**Mahadevan A, Dwarakanath S, Pai S, Kovoov JM, Radhesh S, Srinivas HV, Chandramouli BA, Shankar SK.** Cerebral coenurosis mimicking hydatid disease - report of two cases from South India. Clin Neuropathol. 2011; 30(1):28-32.

**Martínez-Carrasco C, Berriatua E, Garijo M, Martínez J, Alonso FD, de Ybáñez RR.** Epidemiological study of non-systemic parasitism in dogs in southeast Mediterranean

Spain assessed by coprological and post-mortem examination. Zoonoses Public Health. 2007; 54(5):195-203.

**Martínez-Moreno FJ, Hernández S, López-Cobos E, Becerra C, Acosta I, Martínez-Moreno A.** Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. Vet Parasitol. 2007; 143(1):7-13.

**Mateus TL, Castro A, Ribeiro JN, Vieira-Pinto M.** Multiple zoonotic parasites identified in dog feces collected in Ponte de Lima, Portugal-a potential threat to human health. Int J Environ Res Public Health. 2014; 11(9):9050-9067.

**McLauchlin J, Pedraza-Díaz S, Amar-Hoetzeneder C, Nichols G.** Genetic characterization of *Cryptosporidium* strains from 218 patients with diarrhea diagnosed as having sporadic cryptosporidiosis. J Clin Microbiol. 1999; 37: 3153-3158.

**McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM.** Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int J Parasitol. 1998; 28(9):1473-1478.

#### **Merck Veterinary Manual**

(<http://www.msdtvetmanual.com/musculoskeletal-system/sarcocystosis/overview-of-sarcocystosis>)

**Messier V, Lévesque B, Proulx JF, Rochette L, Serhir B, Couillard M, Ward BJ, Libman MD, Dewailly E, Déry S.** Seroprevalence of seven zoonotic infections in Nunavik, Quebec (Canada). Zoonoses Public Health. 2012; 59(2):107-117.

**Miró G, Montoya A, Jiménez S, Frisuelos C, Mateo M, Fuentes I.** Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. Vet Parasitol. 2004; 126(3):249-255.

**Miró G, Mateo M, Montoya A, Vela E, Calonge R.** Survey of intestinal parasites in stray dogs in the Madrid area and comparison of the efficacy of three anthelmintics in naturally infected dogs. *Parasitol Res.* 2007; 100(2):317-320.

**Mizgajska-Wiktor H & Uga S.** Exposure and environmental contamination. En: Holland CV & Smith HV. (Eds.), *Toxocara – The enigmatic parasite.* 2006. CABI Publishing, CAB International, Wallingford, Oxfordshire, UK, pp. 211–227.

**Mohamed AS, Moore GE, Glickman LT.** Prevalence of intestinal nematode parasitism among pet dogs in the United States (2003-2006). *J Am Vet Med Assoc.* 2009; 234(5):631-637.

**Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Ey PL.** Molecular systematics of the parasitic protozoan *Giardia intestinalis*. *Mol Biol Evol.* 1999; 16(9):1135-1144.

**Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Mackrill J, Kulda J, Isaac-Renton JL, Ey PL.** Novel lineages of *Giardia intestinalis* identified by genetic analysis of organisms isolated from dogs in Australia. *Parasitology.* 1998; 116 ( Pt 1):7-19.

**Monis PT & Thompson RC.** *Cryptosporidium* and *Giardia* zoonoses: fact or fiction?. *Infect Genet Evol.* 2003; 3:233–244.

**Monis PT, Andrews RH, Mayrhofer G, Ey PL.** Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Infect Genet Evol.* 2003; 3(1):29-38.

**Monis PT, Caccio SM, Thompson RC.** Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends Parasitol.* 2009; 25(2):93-100.

**Moreno J, Téllez CJ, Pardo FJ.** Casos de hidatidosis en el Departamento de Salud 2 de la Comunidad Valenciana. *Rev Esp Quimioter.* 2009; 22(2):62-67.



**Morgan-Ryan U, Fall A, Ward L, Hijjawi N, Sulaiman I, Fayer R, Thompson R, Olson M, Lal A, L Xiao.** *Cryptosporidium hominis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from *Homo sapiens*. J Eukaryot Microbiol. 2002; 49 (6): 433-440.

**Morgan UM & Xiao L.** *Cryptosporidium* spp. in domestic dogs: the 'dogs' genotype. Appl Environ Microbiol. 2000; 66(5):2220.

**Moro P & Schantz PM.** Echinococcosis: a review. Int J Infect Dis. 2009; 13(2):125-133.

**Mukaratirwa S & Busayi R.** A survey of patent gastrointestinal parasites of stray dogs in Bulawayo urban area. Zimbabwe Vet J. 1995; 26: 19-27.

**Mukaratirwa S, Singh VP.** Prevalence of gastrointestinal parasites of stray dogs impounded by the Society for the Prevention of Cruelty to Animals (SPCA), Durban and Coast, South Africa. S Afr Vet Ass. 2010; 81(2): 123-125.

**Mwambete KD, Ponce-Gordo F, Cuesta-Bandera, C.** Genetic identification and host range of the Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. Acta Trop. 2004; 91: 87–93.

**Nakao M, Lavikainen A, Yanagida T, Ito A.** Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae). Int J Parasitol, 2013. 11; 43(12):1017-1029.

**Nakao M, McManus DP, Schantz PM, Craig PS, Ito A.** A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. Parasitology. 2007; 134:713–722.

**Nash TE & Keister DB.** Differences in excretory-secretory products and surface antigens among 19 isolates of *Giardia*. J Infect Dis. 1985; 152(6):1166-71.

**Navarro-i-Martinez L, del Águila C, Bornay-Llinares FJ.** *Cryptosporidium*: a genus in revision. The situation in Spain. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011; 29:135–143.

**Neves D, Lobo L, Simões PB, Cardoso L.** Frequency of intestinal parasites in pet dogs from an urban area (Greater Oporto, northern Portugal). *Vet Parasitol.* 2014; 200 (3-4):295-298.

**Nithiuthai S, Anantaphruti MT, Waikagul J, Gajadhar A.** Waterborne zoonotic helminthiasis. *Vet Parasitol.* 2004; 126(1-2):167-193.

**Núñez-Fernández FA, Sanjurjo González E, Finlay Villalvilla CM.** Comparación de varias técnicas coproparasitológicas para el diagnóstico de geohelmintiasis intestinales. *Rev Ins Med trop Sao Paulo.* 1991; 33(5): 403-406.

**O'Donoghue P & Rommel M.** Australian-German collaborative studies on the immunology of *Sarcocystis* infections. *Angew Parasitol.* 1992; 33(2):102-19.

**OMS, 1951.** Expert Committee on Zoonoses. World Health Organization Technical Report Series No. 40.

**OMS, 2012.** Accelerating work to overcome the global impact of neglected tropical diseases a roadmap for implementation. [consultado 3 enero 2017]. [http://www.who.int/neglected\\_diseases/NTD\\_RoadMap\\_2012\\_Fullversion.pdf](http://www.who.int/neglected_diseases/NTD_RoadMap_2012_Fullversion.pdf)

**OMS, 2014.** Informe oficial de las enfermedades desatendidas.[consultado 20 enero 2016]. <http://www.who.int/neglecteddiseases/diseases/en/>.

**OMS, 2015.** Assembling a framework for intensified control of taeniasis and neurocysticercosis caused by *Taenia solium*. Report of an informal consultation.[consultado 20 enero 2016]. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/153237/1/9789241508452\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/153237/1/9789241508452_eng.pdf)

**OMS, 2017.** Zoonosis y medio ambiente. [consultado 27 mayo 2016] Disponible en [http://www.who.int/foodsafety/areas\\_work/zoonose/es/](http://www.who.int/foodsafety/areas_work/zoonose/es/).

**Ortuño A & Castellà J.** Intestinal Parasites in shelter dogs and risk factors associated with the facility and its management. *Isr J Vet Med.* 2011; 66(3):103-107.

**Ortuño A, Scorza V, Castellà J, Lappin M.** Prevalence of intestinal parasites in shelter and hunting dogs in Catalonia, Northeastern Spain. *Vet J.* 2014; 199(3):465-467.

**Oshiro LM, Motta-Castro AR, Freitas SZ, Cunha RC, Dittrich RL, Meirelles AC, Andreotti R.** *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* serodiagnosis in human immunodeficiency virus carriers. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2015; 48(5):568-72.

**Osley Garzón Duque M.** Carga de la enfermedad. *Rev CES Sal Pub* 2012; 3(2):289-295.

**Osman M, Bories J, El Safadi D, Poirel MT, Gantois N, Benamrouz-Vanneste S, Delhaes L, Hugonnard M, Certad G, Zenner L, Viscogliosi E.** Prevalence and genetic diversity of the intestinal parasites *Blastocystis* sp. and *Cryptosporidium* spp. in household dogs in France and evaluation of zoonotic transmission risk. *Vet Parasitol.* 2015; 214(1-2):167-70.

**Otero-Abad B & Torgerson PR.** A Systematic Review of the epidemiology of echinococcosis in domestic and wild animals. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013; 7(6):1-13.

**Paoletti B, Traversa D, Iorio R, De Berardinis A, Bartolini R, Salini R, Di Cesare A.** Zoonotic parasites in feces and fur of stray and private dogs from Italy. *Parasitol Res.* 2015; 114(6):2135-2141.

**Pardo J, Muro, A, Galindo I, Cordero M, Carpio A, Siles-Lucas M.** Hydatidosis in the province of Salamanca (Spain): should we let down our guard?. *EnfermInfecc Microbiol Clin.* 2005; 5: 266–269.

**Patterson DJ.** Protozoa, evolution and systematics. En: Housmann K, Hulsmann N, editores. *Progress in Protozoology.* Stuttgart: Fischer, 1994. 1-14

**Paul M, King L, Carlin EP.** Zoonoses of people and their pets: a US perspective on significant pet-associated parasitic diseases. *Trends Parasitol.* 2010; 26(4):153-154.

**Peng M, Xiao L, Freeman A, Arrowood M, Escalante A, Weltman A, Ong C, Mac Kenzie W, Lal A and C Beard.** Genetic polymorphism among *Cryptosporidium parvum* isolates: evidence of two distinct human transmission cycles. *Emerg Infect Dis.* 1997; 3(4): 567-573.

**Piekarska J, Bajzert J, Gorczykowski M, Kantyka M, Podkowik M.** Molecular identification of *Giardia duodenalis* isolates from domestic dogs and cats in Wrocław, Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2016; 23(3):410-415.

**Pipia AP, Varcasia A, Tamponi C, Sanna G, Soda M, Paoletti B, Traversa D, Scala A.** Canine giardiasis in Sardinia Island, Italy: prevalence, molecular characterization, and risk factors. *J Infect Dev Ctries.* 2014; 8(5):655-660.

**Puente Puente S, BruGorraiz F, Azuara Solís M, Colomo Gómez C, González Lahoz JM.** Cutaneous larva migrans: 34 outside cases. *Rev Clin Esp.* 2004; 204(12): 636-639.

**Quadros RM, Weiss PH, Marques SM, Miletto LC.** Potential cross-contamination of similar *Giardia duodenalis* assemblage in children and pet dogs in southern Brazil, as determined by PCR-RFLP. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2016; 58:66.

**RAE.** <http://dle.rae.es/?w=diccionario>

**Ramachandran S, Gam AA, Neva FA.** Molecular differences between several species of *Strongyloides* and comparison of selected isolates of *S. stercoralis* using a polymerase chain reaction-linked restriction fragment length polymorphism approach. *Am J Trop Med Hyg.* 1997; 56(1):61-65.

**Read CM, Monis PT, Thompson RC.** Discrimination of all genotypes of *Giardia duodenalis* at the glutamate dehydrogenase locus using PCR-RFLP. *Infect Genet Evol.* 2004; 4: 125–130.

**Reaser JK, Clark EE Jr, Meyers NM.** All creatures great and minute: a publicpolicy primer for companion animal zoonoses. *Zoonoses Public Health.* 2008; 55(8-10):385-401.

**Riggio F, Mannella R, Ariti G, Perrucci S.** Intestinal and lung parasites in owned dogs and cats from central Italy. *Vet Parasitol.* 2013; 193(1-3):78-84.

**Roddie G, Stafford P, Holland C, Wolfe A.** Contamination of dog hair with eggs of *Toxocara canis*. *Vet Parasitol.* 2008; 152(1–2):85–93.

**Rodrigo MR, Canizares FJ, Nieto GA, Lopez FCR, Alcalde MS.** Ovine Hydatidosis in the Community of Madrid (Spain). *Rev Panam Salud Publica.* 1997; 5: 376–379

**Rodriguez-Hernandez M, Ruiz-Perez-Pipaon M, Cañas E, Bernal C, Gavilan F.** *Strongyloides stercoralis* hyperinfection transmitted by liver allograft in a transplant recipient. *Am J Transplant.* 2009; 9(11):2637-2640.

**Rodríguez-Vivas RI, Gutierrez-Ruiz E, Bolio-González ME, Ruiz-Piña H, Ortega-Pacheco A, Reyes-Novelo E, Manrique-Saide P, Aranda-Cirerol F, Lugo-Perez JA.** An epidemiological study of intestinal parasites of dogs from Yucatan, Mexico, and their risk to public health. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011; 11(8):1141-1144.

**Román P, Pastor A, Moreno R, Igual R, Martín A, Navarro I, Ricart C.** Endemic strongyloidiasis on the Spanish Mediterranean coast. *Q J Med.* 2001; 94: 357–363.

**Román P, Pastor A, Moreno R, Igual R, Suñer S, Tornero C.** High prevalence of *Strongyloides stercoralis* among farm workers on the Mediterranean coast of Spain: analysis of the predictive factors of infection in developed countries. *Am J Trop Med Hyg.* 2003; 69: 336–340.

**Romig T, Ebi D, Wassermann M.** Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus* sensu lato. *Vet Parasitol.* 2015; 213(3):76-84.

**Ruaux CG & Stang BV.** Prevalence of *Blastocystis* in shelter-resident and client-owned companion animals in the US Pacific Northwest. *PLoS One.* 2014; 9(9):e107496.

**Rubel D, Wisnivesky C.** Magnitude and distribution of canine fecal contamination and helminth eggs in two areas of different urban structure, Greater Buenos Aires, Argentina. *Vet Parasitol.* 2005; 133(4):339-347.

**Ryan U & Cacciò SM.** Zoonotic potential of *Giardia*. *Int J Parasitol.* 2013; 43(12-13): 943-56.

**Ryan U, Fayer R, Xiao L.** *Cryptosporidium* species in humans and animals: 570 current understanding and research needs. *Parasitology.* 2014; 141: 1667–1685.

**Saarma U, Jõgisalu I, Moks E, Varcasia A, Lavikainen A, Oksanen A, Simsek S, Andresiuk V, Denegri G, González LM, Ferrer E, Gárate T, Rinaldi L, Maravilla P.** A novel phylogeny for the genus *Echinococcus*, based on nuclear data, challenges relationships based on mitochondrial evidence. *Parasitology*, 2009. 03; 136(3):317-328.

**Salomon JA, Vos T, Hogan DR, Gagnon M, Naghavi M, Mokdad A, et al.** Common values in assessing health outcomes from disease and injury: disability weights measurement study for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 2012; 380(9859):2129-2143.

**Salomon J, Vos T, Murray C.** Disability weights for the Global Burden of Disease 2013 study. *Lancet Glob Health.* 2015; 3: e712–23.

**Sánchez-Capilla A, Solózano-Puerto A, Rodríguez-Granger J, Martínez-Brocal A, Navarro-Marí J, Gutiérrez-Fernández J.** Infectious etiology of diarrreas studied in a third-level hospital during a five-year period. *Rev Esp Enferm Dig.* 2015; 107(2): 89-97.

**Sánchez Thevenet P, Jensen O, Mellado I, Torrecillas C, Raso S, Flores ME, Minvielle MC, Basualdo JA.** Presence and persistence of intestinal parasites in canine fecal material collected from the environment in the Province of Chubut, Argentine Patagonia. *Vet Parasitol.* 2003; 117(4):263-269.

**Schär F, Guo L, Streit A, Khieu V, Muth S, Marti H, Odermatt P.** *Strongyloides stercoralis* genotypes in humans in Cambodia. *Parasitol Int.* 2014; 63(3):533-536.

**Schrader C, Schielke A, Ellerbroek L, Johne R.** PCR inhibitors – occurrence, properties and removal. *J Appl Microbiol.* 2012; 113: 1014–1026.

**Semenas L, Flores V, Viozzi G, Vázquez G, Pérez A, Ritossa L.** Helmintos zoonóticos en heces caninas de barrios de Bariloche (Río Negro, Patagonia, Argentina). *Rev Arg Parasitol.* 2014; 2(2): 22-27.

**Shin JC, Reyes AW, Kim SH, Kim S, Park HJ, Seo KW, Song KH.** Molecular detection of *Giardia intestinalis* from stray dogs in animal shelters of Gyeongsangbuk-do (Province) and Daejeon, Korea. *Korean J Parasitol.* 2015; 53(4):477-481.

**Simpson AJ, Sher A, Mc Cutchan TF.** The genome of *Schistosoma mansoni* isolation, its size, bases and repetitive sequences. *Mol Biochem Parasitol.* 1982; 6:125–137.

**Silberman JD, Sogin ML, Leipe DD, Clark CG.** Human parasite finds taxonomic home. *Nature*, 1996; 380(6573):398.

**Sistema de notificación de Enfermedades de Declaración Obligatoria. Dirección General de Salud Pública.** [última consulta 20 febrero 2017] Disponible en: <http://www.sp.san.gva.es/>.

**Sobrino R, González LM, Vicente J, Fernandez de Luco D, Garate T, Gortazar C.** *Echinococcus granulosus* (Cestoda, Taeniidae) in the Iberian wolf. *Parasitol Res.* 2006; 99: 753–756.

**Soriano SV, Pierangeli NB, Rocca I, Bergagna HF, Lazzarini LE, Celescinco A, Saiz MS, Kossman A, Contreras PA, Arias C, Basualdo JA.** A wide diversity of zoonotic intestinal parasites infects urban and rural dogs in Neuquén, Patagonia, Argentina. *Vet Parasitol.* 2010; 167(1):81-85.

**Soriano SV, Pierangeli NB, Pianciola LA, Mazzeo M, Lazzarini LE, Debiaggi MF, Bergagna HF, Basualdo JA.** The optimum cut-off value to differentiate *Echinococcus granulosus sensu stricto* from other species of *E. granulosus sensu lato* using larval rostellar hook morphometry. *J Helminthol.* 2013; 10:1-8.

**Sotiraki S, Himonas C, Korkoliakou P.** Hydatidosis-echinococcosis in Greece. *Acta Trop.* 2003; 85(2):197-201.

**Spano F, Putignani L, Crisanti A, Sallicandro P, Morgan U, Le Blancq S, Tchack L, Tzipori S and G Widmer.** Multilocus genotypic analysis of *Cryptosporidium parvum* isolates from different hosts and geographical origins. *J Clin Microbiol.* 1998. 36 (11): 3255-3259.

**Stensvold CR & Clark CG.** Current status of *Blastocystis*: A personal view. *Parasitol Int.* 2016; 65(6 Pt B):763-771.

**Szwabe K & Blaszkowska J.** Stray dogs and cats as potential sources of soil contamination with zoonotic parasites. *Ann Agric Environ Med.* 2017; 24(1):39-43.

**Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S.** MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol.* 2013; 30:2725–2729.

**Taylor LH, Latham SM, Woolhouse ME.** Risk factors for human disease emergence. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2001; 356: 983-989.



**Thamsborg SM, Ketzis J, Horii Y, Matthews JB.** *Strongyloides* spp. infections of veterinary importance. *Parasitology*. 2017; 144(3):274-284.

**Thevenet PS, Jensen O, Drut R, Cerrone GE, Grenóvero MS, Alvarez HM, Targovnik HM, Basualdo JA.** Viability and infectiousness of eggs of *Echinococcus granulosus* aged under natural conditions of inferior arid climate. *Vet Parasitol*. 2005; 133:71-77.

**Thompson RCA.** The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Exp Parasitol*. 2008; 119: 439–446.

**Thompson RCA.** Parasite zoonoses and wildlife: One health, spillover and human activity. *Int J Parasitol*, 2013. 11; 43(12):1079-1088.

**Thompson RCA & Monis PT.** Variation in *Giardia*: implications for taxonomy and epidemiology. *Adv Parasitol*. 2004; 58:69-137.

**Thompson RCA & Monis PT.** Variation in *Giardia*: Implications for Taxonomy and Epidemiology. *Adv Parasitol*. 2005; 58:69-137.

**Thompson RCA & Monis PT.** Taxonomy of *Giardia* species. H.D. Lujan, S. Svärd (Eds.), *Giardia: a model organism*, Springer, New York (2011), pp. 3–15

**Thompson RC, CS Palmer, R O’Handley.** The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *Vet J*. 2008; 177:18–25.

**Thorsteinsdottir S, Thyssen JP, Stokholm J, Vissing NH, Waage J, Bisgaard H.** Domestic dog exposure at birth reduces the incidence of atopic dermatitis. *Allergy*. 2016; 71(12):1736-1744.

**Tiangtip R & Jongwutiwes S.** Molecular analysis of *Cryptosporidium* species isolated from HIV-infected patients in Thailand. *Trop Med Int Health*. 2002; 7:357–364.

**Torgerson PR & Macpherson CNL.** The socioeconomic burden of parasitic zoonoses: Global trends. *Vet Parasitol.* 2011; 182(1):79-95.

**Traversa D.** Are we paying too much attention to cardio-pulmonary nematodes and neglecting old-fashioned worms like *Trichuris vulpis*? *Parasit Vectors.* 2011; 4:32-39.

**Traversa D.** Pet roundworms and hookworms: a continuing need for global worming. *Parasit Vectors.* 2012; 10 (5):91-103.

**Traversa D, Frangipane di Regalbono A, Di Cesare A, La Torre F, Drake J, Pietrobelli M.** Environmental contamination by canine geohelminths. *Parasit Vectors.* 2014; 7:67-77.

**Trejo CA, Romero Núñez C, García Contreras Adel C, Mendoza Barrera GE.** Soil contamination by *Toxocara* spp. eggs in a university in Mexico City. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2012; 21(3):298-300.

**Turrientes M & López, R.** Diagnóstico de parasitosis intestinales. *JANO.* 2003; 64;37-39.

**Tylkowska A, Pilarczyk B, Gregorczyk A, Templin E.** Gastrointestinal helminths of dogs in Western Pomerania, Poland. *Wiad Parazytol.* 2010; 56(3):269-276.

**Uehlinger FD, Greenwood SJ, McClure JT, Conboy G, O'Handley R, Barkema HW.** Zoonotic potential of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. and prevalence of intestinal parasites in young dogs from different populations on Prince Edward Island, Canada. *Vet Parasitol.* 2013; 196(3-4):509-514.

**Upton SJ & CA Zien.** Description of a *Giardia varani*-like flagellate from a water monitor, *Varanus salvator*, from Malaysia. *J Parasitol.* 1997; 83:970–971.

**Verwei JJ, Schinkel J, Laeijendecker D, van Rooyen MA, van Lieshout L, Polderman AM.** Real-time PCR for the detection of *Giardia lamblia*. *Mol Cell Probes.* 2003; 17: 223–225.

**Verweij JJ, Canales M, Polman K, Ziem J, Brienen EA, Polderman AM, van Lieshout L.** Molecular diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in faecal samples using real-time PCR. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2009; 103(4):342-346.

**Viney ME & Graham AL.** Patterns and processes in parasite co-infection. *Adv Parasitol.* 2013; 82:321-69.

**Wassermann M, Woldeyes D, Gerbi BM, Ebi D, Zeyhle E, Mackenstedt U, et al.** A novel zoonotic genotype related to *Echinococcus granulosus sensu stricto* from southern Ethiopia. *Int J Parasitol.* 2016; 46(10):663-668.

**World Health Organization** and partners unveil new coordinated approach to treat millions suffering from neglected tropical disease. [Consultado 6 agosto 2015] Disponible en: [[http://whqlibdoc.who.int/press\\_release/2006/PR](http://whqlibdoc.who.int/press_release/2006/PR)].

**Xiao L, Bern C, Arrowood M, Sulaiman I, Zhou L, Kawai V, Vivar A, Lal AA, Gilman RH.** Identification of the *Cryptosporidium* pig genotype in a human patient. *J Infect Dis.* 2002; 185:1846–1848.

**Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton S.** *Cryptosporidium* Taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev.* 2004; 17(1):72-97.

**Xiao L, Bern C, Sulaiman IM, Lal AA.** Molecular epidemiology of human cryptosporidiosis. 2004. In: Thompson, R.C.A., Armson, A., Ryan, U.M. (Eds.), *Cryptosporidium: From Molecules to Disease*. Elsevier, Amsterdam, pp. 121–146.

**Xiao L & Fayer R.** Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. *Int J Parasitol.* 2008; 38(11):1239-1255.

**Xiao L & Ryan U.** Molecular Epidemiology. In: R Fayer and L Xiao (Eds.), *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. 2008. CRC Press and IWA Publishing, Boca Raton. FL. Pp. 119-169

**Xiao L & Feng Y.** Zoonotic cryptosporidiosis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2008; 52(3):309-323.

**Xiao N, Qiu J, Nakao M, Li T, Yang W, Chen X, Schantz PM, Craig PS, Ito A.** *Echinococcus shiquicus* n. sp., a taeniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. *Int J Parasitol.* 2005; 35:693–701.

**Xu F, Jerlström-Hultqvist J, Andersson JO.** Genome-wide analyses of recombination suggest that *Giardia intestinalis* assemblages represent different species. *Mol Biol Evol.* 2012; 29(10):2895-8.

**Xu H, Jin Y, Wu W, Li P, Wang L, Li N, Feng Y, Xiao L.** Genotypes of *Cryptosporidium spp.*, *Enterocytozoon bieneusi* and *Giardia duodenalis* in dogs and cats in Shanghai, China. *Parasit Vectors.* 2016; 9:121.

**Yang R, A Reid, A Lymbery, U Ryan.** Identification of zoonotic *Giardia* genotypes in fish. *Int J Parasitol.* 2009; 40:779–785.

**Zajac AM & Saleh M.** The Baermann test: try this parasitology test in your practice. *Veterinary Medicine,* 2013; 108: 18–23.