

Identificación de bacterias y parásitos asociados a la materia fecal de diferentes ejemplares de *Equus ferus caballus* de Salento, departamento del Quindío

Identification of bacteria and parasites associated with fecal matter from different specimens of *Equus ferus caballus* from Salento, department of Quindío

Paola Andrea Toloza Beltrán¹ & Fabiana María Lora Suarez^{1*}

1. Programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías. Universidad del Quindío, grupo de investigación GICBE, Grupo de investigación GEPAMOL.

Recibido: Mayo 10 del 2019

Aceptado: Septiembre 20 del 2019

*Correspondencia del autor: Paola Andrea Toloza Beltrán

E-mail: patolozab@uqvirtual.edu.co

Resumen

Las enfermedades de origen zoonótico han sido gravemente descuidadas en países en vía de desarrollo, sin tener en cuenta que esto puede tener graves implicaciones a nivel de salud pública, particularmente para Colombia, en las últimas décadas se han dado fuertes cambios sociales que han implicado, entre otras cosas, el aumento de la tendencia a la posesión de animales de compañía incluyendo a *Equus ferus caballus*, para el cual, la microbiota asociada ha sido mal estudiada en comparación con otros animales. Por lo anterior, se planteó como objetivo identificar la microbiota bacteriana y parasitaria asociada a la materia fecal de *Equus ferus caballus*, para cumplir dicho objetivo, se tomaron muestras independientes para cada uno de los fines, realizando la concentración de parásitos mediante la técnica de Ritchie y cultivo de bacterias para su posterior identificación mediante el Kit BD BBL CRYSTAL E/NF y GP. Para el análisis de los datos se realizó regresión logística mediante Statgraphics. Se lograron aislar 19 bacterias de las cuales seis fueron explicadas por al menos uno de las variables tenidas en cuenta. Nueve de las bacterias aisladas no se habían reportado con anterioridad para equinos. Se reportan tres géneros de parásitos nuevos para la especie (*Balantidium* sp, *Cyclospora* sp. y *Taenia* sp.) y cuatro nuevos para el país (*Allantosoma* sp, *Blepharocorys* sp, *Cycloposthium* sp. y *Bundleia* sp.) Se concluye que las variables tenidas en cuenta si tienen influencia en la incidencia de algunos microorganismos aislados, de igual manera se reportan nuevas especies de bacterias para *Equus ferus caballus* así como de parásitos.

Palabras clave: zoonótico, microorganismos, *Equus ferus caballus*, diversidad

Abstract

Diseases of zoonotic origin have been seriously neglected in developing countries, without taking into account that this may have serious public health implications, particularly for Colombia, in recent decades there have been strong social changes that have involved, among other things, the increase of the tendency to the possession of companion animals including *Equus ferus caballus*, for which, the associated microbiota has been poorly studied in comparison with other animals. Therefore, we set ourselves the objective of identifying the bacterial and parasitic diversity associated with fecal matter of *Equus ferus caballus*. For this, independent samples were taken for each of the purposes, making the concentration of parasites using the Ritchie technique; Samples for bacterial isolation were processed and identified with the BD BBL CRYSTAL E / NF and GP Kit. For the analysis of the data, logistic regression was performed using Statgraphics. We were able to isolate 19 bacteria, of which six were explained by at least one of the variables taken into account. Nine of the isolated bacteria had not been previously reported for equines. Three genera of new parasites are reported for the species (*Balantidium* sp, *Cyclospora* sp and *Taenia* sp.) And four new for the country (*Allantosoma* sp, *Blepharocorys* sp, *Cycloposthium* sp. and *Bundleia* sp.) It is concluded that the variables taken into if they have influence on the incidence of some isolated microorganisms, in the same way new species of bacteria for *Equus ferus caballus* as well as parasites are reported.

Keywords: zoonotic, microorganisms, new reports, *Equus ferus caballus*, diversity

Introducción

La microbiología es la ciencia encargada del estudio de organismos no visibles a simple vista, dentro de la investigación de dichos individuos se indaga en aspectos taxonómicos, morfológicos, genéticos y metabólicos además de su ecología, estos factores son imprescindibles para la comprensión de su interacción con otros organismos, con el ambiente que los rodea y qué tipo de relaciones son las que establecen, pudiendo formar diferentes asociaciones como: mutualismo, parasitismo o comensalismo (1), entre otras. El término microbiota hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos que habitan un medio determinado y dentro de los cuales se incluyen: virus, bacterias, protozoarios, algas y hongos (2).

La mayoría de los microorganismos tienen distribución cosmopolita incluyendo cavidades internas del cuerpo que tienen conexión con el exterior (3), el tracto gastrointestinal constituye el principal medio de intercambio y comunicación entre el medio externo e interno, esta área representa el hábitat natural de una gran población de microorganismos muy dinámica y diversa, incluyendo fundamentalmente bacterias, entre las que hay especies nativas que permanecen en este espacio y otras que transitan temporalmente por él (2).

La mayor parte de la flora microbiana que se encuentra

asociada a un huésped, así como aquella de vida libre, presentando las primeras adaptaciones de permanencia a organismos superiores (1), se comportan de manera beneficiosa cuando sus poblaciones están en equilibrio, cumpliendo funciones de actividad metabólica que se traducen en recuperación de energía y nutrientes y estimulación del sistema inmune (4), entre otras funciones positivas. Se conoce que la microbiota patógena está representada en una proporción muy pequeña comparada con la totalidad de especímenes incluidos en esta categoría y que en algunos casos incluso la flora normal es esencial para correcto funcionamiento de determinados sistemas (5).

El desconocimiento de la presencia en animales domésticos de agentes que pueden resultar potencialmente patógenos puede generar graves problemas de salud pública, teniendo en cuenta que muchos de estos patógenos que tienen como hospederos habituales a animales con los que convivimos a diario pueden ser transmitidos a humanos por diferentes rutas generando enfermedades de origen zoonótico (6), como lo es la leptospirosis o la brucelosis, entre otras conocidas, además de aquellas que probablemente son ignoradas desde el punto de vista clínico. En las últimas décadas la sociedad colombiana ha experimentado cambios que han modificado sus hábitos y conductas, entre ellas se ha visto una creciente tendencia a la posesión de animales de compañía, sin embargo, en el país se han desarrollado muy pocos

estudios acerca de estos (7).

Según Costa *et al.* en el 2015 (8), las comunidades microbianas asociadas al tracto digestivo de *Equus ferus caballus* han sido mal estudiadas en comparación con otras especies a pesar de la evidente importancia que estas tienen desde diferentes perspectivas. En la actualidad es muy común la cría de caballos con fines lucrativos o deportivos lo que deriva en una estrecha relación de los humanos con estos especímenes, por lo que es importante conocer la fauna microbiana asociada a estos.

Equus ferus caballus es un mamífero domesticado con distribución mundial en la actualidad (9). Tiene alimentación herbívora y digestión no rumiante por lo que tienen una única cavidad estomacal y además muy pequeña comparada con el resto de su aparato digestivo, posee un fuerte esfínter en que controla el pasaje de alimentos del esófago al estómago, razón por la cual son incapaces de vomitar, por lo que la infección en este sistema puede causarles la muerte (10).

Según Bedoya *et al.* en el 2011 (11) de manera general se han utilizado como referencia estudios de caracterización realizados en Europa, Norteamérica u otras zonas influenciadas por la estacionalidad, omitiendo así la importancia del clima tropical como potencializador de poblaciones parasitarias.

Dentro de los estudios realizados en el país encontramos: “Prevalencia de parásitos gastrointestinales en équidos del municipio de Oiba (Santander)” por Bedoya *et al.* (2011) (11), en el cual se escogieron 200 équidos del municipio para examen coprológico, donde se lograron aislar e identificar los siguientes géneros: *Trichostrongylus*, *Trichonema* y *Strongylus*. Así mismo, encontramos el estudio realizado en 2005 por Cardona *et al.* “Caracterización de nemátodos gastrointestinales de equinos que llegan a la central ganadera de Medellín” (12), en este estudio se escogieron 108 ejemplares de equinos de diferentes edades y sexos, de los cuales fueron extraídas muestras de materia fecal directamente del recto, a partir de ellas se lograron identificar los siguientes parásitos: *Strongylidos*, *Anoplocephala* sp., *Oxyuris equi*, *Parascaris equorum*, *Cyathostomum* sp., *Strongylus equinus*, *S. vulgaris*, *Trichostrongylus axei*, *Oesophagodontus* sp., el cual se demostró por primera vez en Colombia, *Triodontophorus* sp., *Gyaloccephalus* sp. y *Poteriostomum* sp). Por otra parte, encontramos el estudio titulado “Incidencia de parásitos

internos en equinos de la Sabana de Bogotá” (13) por Parra y Mateus, donde se evalúan muestras fecales a partir de 100 individuos de una explotación equina, se encuentran: *Strongylus*, *Trichonema*, *Parascaris*, *Paranoplocephala*, *Strongyloides*, *Nematodirus* y *Oxyurus*. Encontramos también “*Anoplocephala perfoliata* en el noroccidente de Colombia” por Benavides *et al.* en el 2008 (14), donde se realizó un estudio para evaluación de la presencia de *A. perfoliata* en 135 équidos, de diferentes edades y sexos entre otras variables tenidas en cuenta, los individuos pertenecían a los municipios de Marmato, Supia y Marquetalia ubicados en el departamento de Caldas, como resultado obtuvieron, que del total de los individuos evaluados, el 31.7% de los individuos fueron positivos, y no se hayo una relación entre la presencia o ausencia de *A. perfoliata* y las variables evaluadas. Finalmente encontramos el estudio llevado a cabo por Castillo *et al.* en el 2015, “Parasitismo gastrointestinal y pulmonar en caballos cocheros del municipio de Caldas, Antioquia, Colombia” (15), en este estudio mediante exámenes coproparasitarios se buscaba determinar la presencia de parásitos gastrointestinales y pulmonares, para ello, se utilizaron 40 equinos, de los cuales el 27.5% fueron positivos a parásitos, en estos animales infestados se encontraron huevos tipo *estrongilidos* y *Dictyocaulus* sp.

Como antecedentes internacionales se tienen los géneros de bacterias reportados por un estudio realizado en Ontario, Canadá, llevada a cabo en caballos sometidos a eutanasia, de los cuales fueron extraídas muestras del tracto gastrointestinal, y fueron identificados los géneros mencionados a continuación: *Firmicutes*, *Lactobacillus* spp, *Sarcina* spp, *Actinobacillus* y *Clostridium sensu stricto*, *Verrucomicrobia* y otros sin definir taxón (8). Para protozoos ciliados se han reportado los siguientes géneros por medio de un estudio realizado a partir de materia fecal del *Equus ferus caballus* en Chipre: *Bundleia*, *Polymorphella*, *Blepharoprosthium*, *Hemiprorodon*, *Blepharoconus*, *Paraisotricha*, *Blepharocorys*, *Spirodinium*, *Cycloposthium* (16). También se tiene un estudio realizado por Plegar, Nerad & Anderson en 2016 (17), donde se reporta una nueva especie de parásito denominada *Stenamoeba polymorpha*, extraída de una muestra de materia fecal diarreica de un ejemplar de *Equus ferus caballus* en Virginia, Estados Unidos. Por parte de Morsy, Bashtar, Al Quraishy & Adel en 2016 (18), se realiza la primera descripción morfológica de los parásitos *Parascaris equorum* y *Habronema microstoma* aislados de los tractos gastrointestinales de cuatro caballos domésticos en Egipto. En el occiden-

te de Australia se reportan parásitos como: *Strongylus vulgaris*, *S. edentatus*, *Draschia megastoma*, *Habronema muscae*, *Gasterophilus intestinalis*, *G. nasalis*, *Parascaris equorum* y *Anoplocephala perfoliata* (19). Se presenta un estudio realizado en cuba, el cual buscaba determinar la prevalencia de las helmintiasis gastrointestinales equinas mediante muestras fecales extraídas de 59 individuos, a partir de los análisis se lograron identificar *Strongylatos*, *Strongyloides westeri*, *Strongylus* sp, *Parascaris equorum* y *Anoplocephala* sp (20). Siendo conscientes de tal situación, este trabajo tiene como objetivo identificar la fauna bacteriana y parasitaria asociada a la materia fecal de *Equus ferus caballus*.

Materiales y métodos

Sitio de muestreo. El trabajo tuvo como escenario de desarrollo el municipio de Salento, ubicado al nororiente del departamento del Quindío en los 4° 38' 14" latitud Norte y los 75° 34' 15" longitud oeste, presentando alturas desde los 1300 msnm en la parte baja y 4750

msnm en su zona de nevados. Se escogieron diferentes sitios de muestreo al azar, entre potreros y caballerizas, evaluando en cada uno de ellos tres quinos, en esa elección, se tuvo como criterio de exclusión que el animal no hubiera sido purgado como mínimo en 1 mes. En los sitios seleccionados, se tuvieron en cuenta tanto características del equino como características del lugar de tenencia del animal (Tabla 1) utilizándose como base de evaluación el protocolo de evaluación de bienestar animal aplicado por Márquez *et al.* en 2010 (21) modificado, que considera indicadores directos como: condición corporal, según tabla de condición corporal desarrollada por Hennecke (1985), presencia de heridas y cicatrices, presencia de claudicaciones y lesiones de cascos observables a la inspección del animal y conductas anormales como patear la pesebrera o sacudir la cabeza según descripciones realizadas Tadich y Araya (22), e indirectos como: manejo sanitario, infraestructura del lugar de tenencia, manejo nutricional y tiempo de estabulación, toda esta información fue consignada en una encuesta que se diligencio con ayuda de los responsables del cuidado de los animales.

Tabla 1. Factores directos e indirectos tenidos en cuenta para la evaluación de los equinos.

Directos	Indirectos
Edad	Frecuencia de baño
Antecedentes clínicos	Frecuencia de purga
Condición corporal	Esterilización
Partos	Frecuencia de limpieza del cubículo
	Contacto con otros animales

Recolección de las muestras. De los sitios seleccionados, se procedió a obtener un consentimiento informado de la administración del lugar para hacer los muestreos, tras este ser obtenido se escogieron distintos ejemplares de *Equus ferus caballus* dentro de estos sitios, de cada uno de los caballos fueron recogidos un total de 16 gramos de materia fecal lo más reciente posible tras la deposición, extrayendo la muestra de la zona central-interna de la deposición con ayuda de pinzas tratadas con hipoclorito de sodio y alcohol y aguantas estériles, del total de la muestra 15 gramos fueron destinados para análisis de parásitos y el gramo restante para estudio de bacterias, estas muestras fueron conservadas en tubos falcon con 15 ml de formol salino al 10% y 5 ml de solución salina al 0,9% respectivamente y transportadas en nevera a aproximadamente 4°C hasta llegar al laboratorio de parasitología del centro de biomédicas de la Universidad del Quindío; estos tubos fueron sellados y rotulados debidamente con número de ejemplar asignado y lugar de recogida de la muestra.

Procesamiento de la muestra. Los 15 gramos de materia fecal destinada al estudio de bacterias fueron diluidos con solución salina al 0.9% y filtrados mediante gasa estéril, a partir del resultado del filtrado se realizó siembra por agotamiento mediante asa bacteriológica en medios nutritivos no selectivos agar sangre y chocolate, tras obtener los cultivos mixtos, los cuales se mantuvieron a temperatura ambiente y se limitó su crecimiento a 48h tras la siembra, se realizaron cultivos axénicos. Por otro lado, la muestra destinada al análisis de parásitos fue sometida a método de concentración Ritchie y coloreada con lugol parasitológico.

Análisis de laboratorio. Para la identificación de bacterias se utilizaron los sistemas de identificación BD BBL CRYSTAL para Gram positivos y entéricos no fermentadores y tinción de Gram; para parásitos se realizó microscopía e identificación por medio características morfológicas y micrométricas del parásito comparando

los resultados obtenidos con expertos en parasitología tanto del centro de biomédicas de la Universidad del Quindío y externos a ella.

Análisis estadístico. A partir de los resultados obtenidos se procedió a hacer la relación entre los factores evaluados y cada uno de los microorganismos hallados en los equinos evaluados mediante la prueba estadística regresión logística en el paquete estadístico STATGRAPHICS Centurion XVIII.

Resultados

Las condiciones de tenencia contempladas para realizar la clasificación, a su vez, contenían características asociadas e intrínsecas (Tabla 2) que fueron evaluadas y arrojaron resultados que nos verificaron una relación entre estos factores y la presencia de los diferentes microorganismos aislados.

Tabla 2. Características generales de las dos condiciones de tenencia evaluadas.

Características generales	Potrero	Establo
Lugar de tenencia	Espacio abierto	Espacio cerrado
Limpieza del lugar	Sin limpieza	Diario a cada 2 días
alimentación	mayormente pastoreo	concentrados, heno y complementos
Control endoparásitos	En lapsos de 2 a 3 meses	en lapsos de 3 a 6 meses
frecuencia de baño	Entre nunca y cada 3 días	entre 3 a 15 días
Contacto con otros animales	si	si

Se obtuvo el aislamiento e identificación de 19 cepas bacterianas (Gráfico 1) que incluyen cepas reportadas como patógenos tanto para equinos como para humanos y otras reportadas específicamente para uno de los dos hospederos. Entre las cepas aisladas se establecieron como más frecuentes las especies *Bacillus subtilis* y *P. agglomerans* con un porcentaje del 12% para ambos, seguido de *C. amalonaticus* con un 9% de frecuencia relativa (ver gráfico 1). De las bacterias aisladas e identificadas se evaluaron de manera estadística ocho, ya que las restantes no presentaban las repeticiones suficientes para ser estimadas, a su vez, de estas, seis fueron explicadas por alguna de las variables tenidas en cuenta (ver tabla 1) siendo los factores explicativos más comunes aquellos relacionados con el cuidado del equino, es decir, factores indirectos, esta correlación se ve reflejada en la tabla 3, la cual contiene los resultados producto de la regresión logística realizada con el objetivo de evidenciar la significancia de los factores evaluados en la presencia de los microorganismos aislados, siendo el R² el porcentaje de desviación explicado por el modelo propuesto, teniendo unos porcentajes entre el 48,9% y el 81,5 % lo que nos indica una fuerte relación generalizada entre los factores evaluados y la presencia de los microorganismos aislados.

Adicionalmente, se identificaron cepas que representan nuevos reportes para *Equus ferus caballus* donde se incluyen *S. uberis*, *B. pumilus*, *A. tumefaciens*, *P. oryzihabitans*, *Shigella* sp., *L. aquatica*, *S. porcinus*, *L. citreum* y *B. cereus*.

Dentro de las cepas aisladas, obtuvimos una diferencia en la incidencia de las mismas, teniendo en cuenta el tipo del cuidado del equino, es decir, si su lugar de tenencia era potrero o establo, esta información se refleja en la tabla 4, donde se pueden observar los nuevos reportes enmarcados en azul, mostrando que el 55.5 % de los nuevos reportes se realizaron a partir de equinos asociados a potrero.

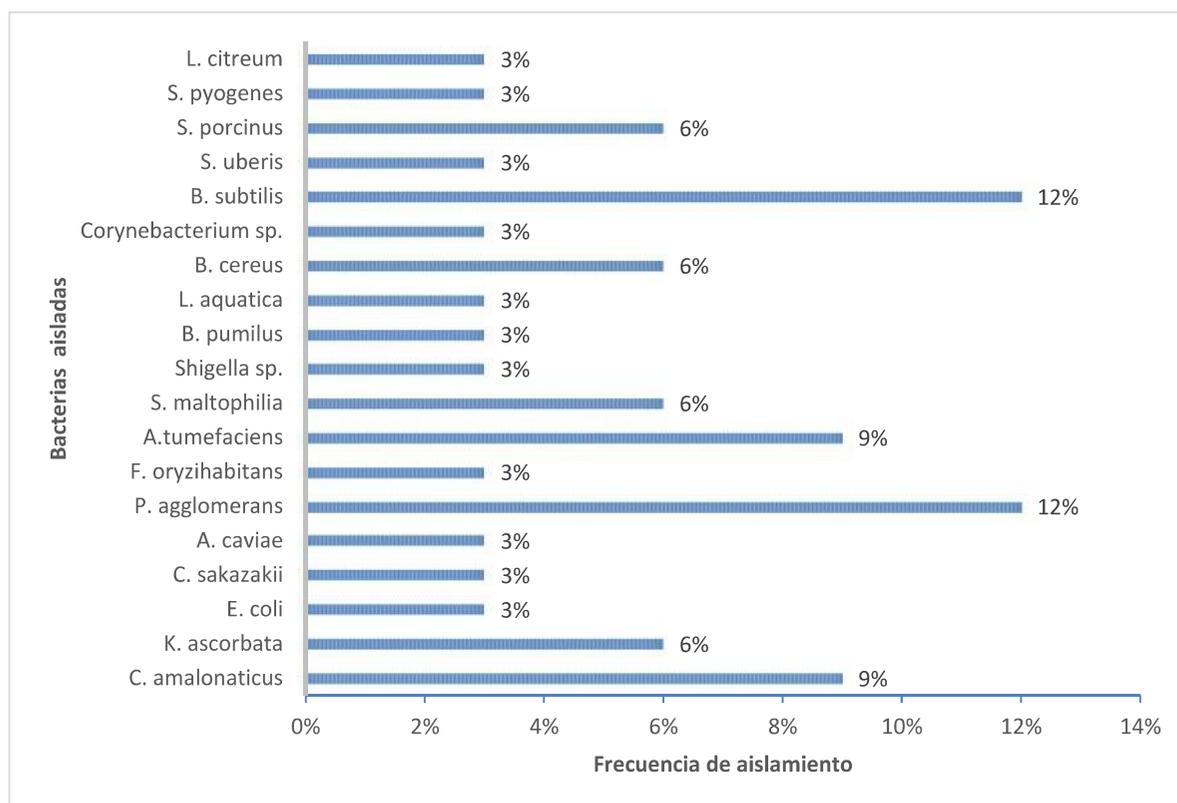


Gráfico 1. Frecuencias de las bacterias aisladas e identificadas de la materia fecal de los ejemplares evaluados en el estudio.

Tabla 3. Evaluación de los factores directos e indirectos VS la presencia de bacterias aisladas.

Factores Directos						
ID	Edad	Antecedentes clínicos	Condición corporal	Partos	R2	
<i>K. ascorbata</i>	X	0,0034	0,022	0,0015	81,5%	
<i>A. tumefaciens</i>	0,0018	X	X	X	48,9%	
<i>B. cereus</i>	0,04	X	0,01	X	59,5%	

Factores Indirectos						
ID	Frec. baño	Frec. pur-ga	Esteriliza-ción	Frec. limpieza l cubí-culo	Contacto otros ani-males	R2
<i>P. agglomerans</i>	0,017	0,002	0,003	X	0,007	65,5%
<i>A. tumefaciens</i>	X	0,016	X	0,015	X	63,4%
<i>S. maltophilia</i>	0,002	X	X	0,001	X	81,4%
<i>B. cereus</i>	0,02	X	X	X	0,008	81,3%
<i>S. porcinus</i>	X	0,02	X	X	X	62,9%

X = P-valor por encima de 0,05

Tabla 4. Cepas bacterianas aisladas teniendo en cuenta la condición de tenencia.

Cepa	Potrero	Establo
<i>C. amalonaticus</i>	33%	67%
<i>K. ascorbata</i>	50%	50%
<i>E. coli</i>	100%	0%
<i>C. sakazakii</i>	0	100%
<i>A. caviae</i>	100%	0%
<i>P. agglomerans</i>	25%	75%
<i>S. maltophilia</i>	0%	100%
<i>B. cereus</i>	100%	0%
<i>Corynebacterium sp.</i>	100%	0%
<i>B. subtilis</i>	50%	50%
<i>S. pyogenes</i>	0%	100%
<i>B. pumilus</i>	100%	0%
<i>F. oryzihabitans</i>	0%	100%
<i>L. aquatica</i>	0%	100%
<i>B. cereus</i>	100%	0%
<i>S. porcinius</i>	100%	0%
<i>Shigella sp.</i>	0%	100%
<i>A. tumefaciens</i>	66%	34%
<i>S. uberis</i>	100%	0%
<i>L. citreum</i>	100%	0%

En recuadro se enmarcan los nuevos reportes para equinos.

Por otra parte, se lograron aislar e identificar de la materia fecal ocho géneros y un suborden de parásitos (Gráfico 2), que incluyen *Balantidium sp.*, *Cyclospora sp.*, *Taenia sp.* (Figura 1) como nuevos reportes asociados a equinos, de manera oficial a nivel nacional para el primero, y de manera global para los últimos, siendo *Cyclospora sp.* reportada por primera vez en el Departamento del Quindío. Además, se pudieron reconocer cuatro géneros que representan el primer informe para Colombia, estos son: *Allantosoma sp.*, *Blepharocorys sp.*, *Cycloposthium sp.* y *Bundleia sp.*, (Figura 2). Dentro de estos nuevos reportes, hallamos, así como en los aislamientos bacterianos, diferencias en la incidencia en la materia fecal de los equinos dependiendo de su lugar de tenencia, esto lo ponemos de manifiesto en la tabla 5.

Además, se hallaron parásitos del género *Parascaris sp.* y del suborden Strongylida (del cual se observó su estado larval) como organismos ya reportados para este hospedero (Figura 3).

Encontramos que el género más frecuente fue *Blepharocorys sp.* con un 22% seguido de *Balantidium sp.* con un 18% y presentándose como menos frecuente *Bundleia sp.* con un 1% (Ver gráfico 2). De estos parásitos fueron evaluados estadísticamente siete ya que los dos restantes no presentaban las repeticiones suficientes para ser estimados, a su vez, la presencia de cuatro de ellos fue explicada por al menos una de las variables evaluadas, predominando como explicativas aquellos factores indirectos (Tabla 6), relación la cual se pone de manifiesto mediante el valor de R², arrojado por la regresión logística realizada, comprendido en este estudio entre el 13,5% y el 64,6%.

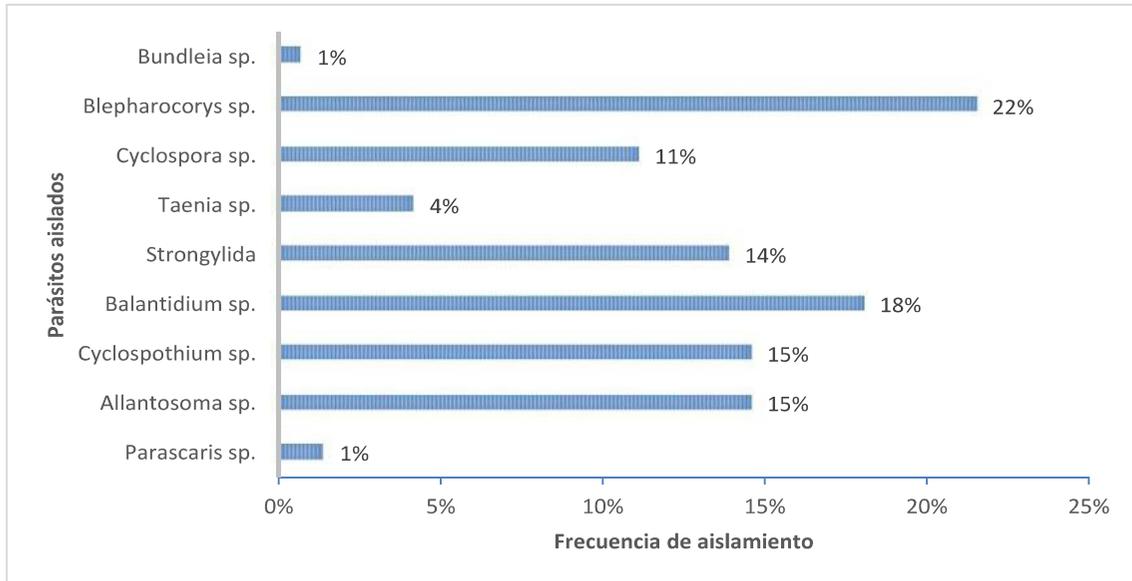


Gráfico 2. Frecuencia de los parásitos aislados e identificados de la materia fecal de los ejemplares evaluados en el estudio.



Figura 1. Reportes nuevos para *Equus ferus caballus* de parásitos aislados a partir de materia fecal. A) *Taenia* sp., B) *Balantidium* sp., C) *Cyclospora* sp. Fotos por el autor.

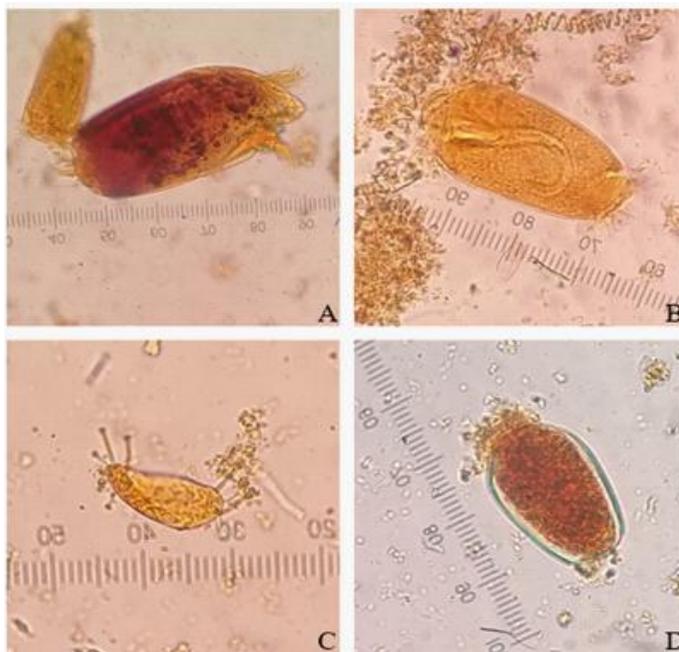


Figura 2. Fotografías de los nuevos reportes parasitarios para el país, aislados de materia fecal de *Equus ferus caballus*. A) *Cyclopothium* sp., B) *Blepharocorys* sp., C) *Allantosoma* sp., D) *Bundleia* sp. Fotos por el autor.

Tabla 5. Parásitos aislados teniendo en cuenta la condición de tenencia.

Parásito	Potrero	Establo
<i>Taenia sp.</i>	75%	25%
<i>Cyclospora sp.</i>	87%	13%
<i>Balantidium sp.</i>	50%	50%
<i>Blepharocorys sp.</i>	48%	52%
<i>Allantosoma sp.</i>	57%	43%
<i>Bundleia sp.</i>	100%	0%
<i>Cycloposthium sp.</i>	42%	58%
<i>Parascaris sp.</i>	100%	0%
<i>Strongylida</i>	60%	40%

**Figura 3.** Parásitos comúnmente asociados a *Equus ferus caballus* aislados de la materia fecal de diferentes ejemplares evaluados. A) Huevo de *Parascaris sp.* infértil, B) Huevo de *Parascaris*, C) Huevo de helminto del suborden Strongylida. Fotos por el autor.**Tabla 6.** Resultados de la evaluación de los factores directos e indirectos VS la presencia de parásitos aislados mediante regresión logística con un nivel de confianza del 95%. Las casillas marcadas con X representan aquellos P-valor por encima de 0,05.

Factores Directos						
ID	Edad	Antecedentes clínicos	Condición corporal	Partos	R2	
<i>Allantosoma sp.</i>	X	X	0,007	X	23%	
<i>Taenia sp.</i>	0,0002	X	0,004	X	64,6%	
Factores Indirectos						
ID	Frec. baño	Frec. purga	Esterilización	Frec. limpieza l cubículo	Contacto otros animales	R2
<i>Allantosoma sp.</i>	X	0,043	X	X	X	13,5%
<i>Cycloposthium sp.</i>	X	0,0009	X	X	0,001	35,9%
<i>Taenia sp.</i>	X	0,009	X	0,024	X	33,4%
<i>Cyclospora sp.</i>	0,045	X	X	X	X	54,6%

Discusión

Los países en vía de desarrollo tienen una cultura de trabajo y ocio muy relacionada con *Equus ferus caballus*, entre otros animales de compañía (23), en este orden de ideas esta relación hombre-animal genera algunos riesgos zoonóticos por lo que se hace necesario conocer la microbiota asociada a estos y así tener la capacidad de control posibilitando la minimización de los mismos (6), por otra parte, se hace importante el conocimiento de esta microfauna, particularmente intestinal, teniendo en cuenta que las infecciones en el aparato digestivo se encuentran relacionadas con altos índices de mortalidad (24) y que generalmente es dificultosa la determinación del agente causal (25), por ello, en este estudio se buscó aislar e identificar la mayor cantidad posible de microorganismos asociados a la materia fecal de este mamífero, incluyendo tanto parásitos como bacterias, con el fin de contribuir a la reducida información nacional acerca de la biodiversidad microbiana asociada a esta matriz.

Los estudios sobre esta temática han sido reducidos, principalmente aquellos dirigidos a la identificación de bacterias (8), dentro de nuestra investigación, encontramos una amplia diversidad de procariotas, de las cuales muchas de ellas actúan como patógenos en humanos, en equinos o para ambos, lo que se convierte en una señal de alerta conociendo el rol que cumplen estos animales en la vida cotidiana de muchas familias colombianas incluyendo el uso de estos como atractivo turístico y como fuente de abono orgánico. La presencia de bacterias como *P. agglomerans* o *A. caviae* reportadas en este estudio, entre otras, y que representan un posible peligro para salud humana y equina generando síntomas como meningitis neonatal, infecciones intestinales y pulmonares (26), entre otros, para los primeros y causante de abortos (27) y lesiones en las mucosas para los segundos (28) debe ser motivo para tomar conciencia acerca de las medidas de precaución en el manejo y cuidado de *Equus ferus caballus*, siendo reflexivos en cuanto a que este mamífero, como otros animales, puede comportarse como reservorio de patógenos que pueden provocar enfermedad zoonótica no conocida en el hombre u otro animal (29), según El Ministerio de Salud y Protección Social (30), el 28% de las zoonosis son causadas por bacterias y se presentan en trabajadores agropecuarios o personas que tienen contacto con estos animales o sus productos, esto se hace relevante en este estudio teniendo en cuenta que el Municipio de Salento representa un importante foco turístico y que el paseo en caballo es uno de sus mayores atractivos.

Es importante mencionar que el único estudio enfocado a identificación de bacterias del tracto gastrointestinal de equinos (8) se llevó a cabo en un país estacional, lo que puede intervenir en la diversidad y abundancia de dichos microorganismos por lo que allí no se reporta ningún género encontrado en este estudio.

La composición de parásitos asociados a materia fecal de equinos se encuentra mejor documentada, aunque sigue siendo pobre, la mayoría de los estudios realizados para el país están dirigidos a la identificación de helmintos, considerándose que las infecciones por estos organismos son las más frecuentes, posicionándose, así como los que revisten mayor importancia a nivel clínico representando una alta prevalencia, morbilidad y mortalidad. De estos organismos se resaltan los Strongylidos grandes y pequeños, como los más patogénicos, *Parascaris equorum*, *Oxyuris equi* y *Anoplocephala perfoliata* como los más prevalentes (31), nuestros resultados concuerdan con la alta prevalencia que manifiesta este estudio en cuanto a Strongylidos grandes y pequeños, encontrándose presencia de estos en el 63%, es decir 20 de los 32 equinos evaluados, sin embargo, se reportan únicamente dos equinos positivos para *Parascaris sp.*, pudiéndose explicar esto por la prevalencia generalizada de estos parásitos en potros, debido a su baja inmunidad, (32) y teniendo en cuenta que los caballos evaluados se comprendían entre los 4 y los 15 años, en cuanto a los dos equinos que fueron positivos (6%), estos compartían condiciones corporales poco saludables, siendo uno de ellos categorizado como delgado y el otro como emaciado, esto es un factor determinante, teniendo en cuenta que la desnutrición y el estrés son elementos que afectan la inmunidad del hospedero y por tanto lo hacen más susceptible a padecer sintomatología por este tipo de parásitos, esto agregado a que eran caballos de potrero y la adquisición de este parásito se da de manera generalizada por consumo de pasto contaminado(33). En este estudio no se reportan las especies *Oxyuris equi* ni *Anoplocephala perfoliata*, esto concuerda con la baja prevalencia reportada en otro estudio llevado a cabo en Antioquia a pesar de que en este usaron la técnica de Baermann (34).

Los problemas gastrointestinales en equinos han ido en aumento debido a diversos factores, entre ellos, encontramos aquellos elementos relacionados con su cuidado, como es el cambio en la alimentación, el ejercicio o trabajo excesivo así como un mal descanso, hasta el momento, para el caballo criollo colombiano no se habían realizado estudios acerca de los factores de riesgo

relacionado con el manejo que podrían hacer más propensos a estos especímenes a padecer infecciones abdominales a pesar de haberse comprobado ya esta relación en caballos de raza (35), en nuestros resultados observamos que efectivamente se encuentra una asociación positiva generalizada entre la presencia de los microorganismos evaluados, tanto bacterias como parásitos, y algún factor independiente, siendo la frecuencia de purga la más relevante, presentándose como uno de los factores explicativos en seis de los diez casos evaluados estadísticamente, esto se corresponde bien con el hecho de que el promedio de tiempo entre purgas es mayor para los equinos que viven en potrero, y a su vez esto se explica teniendo en cuenta que la mayor intensidad de pastoreo dará lugar a una mayor probabilidad de ingestión de parásitos y bacterias, lo que se resume en que los equinos no estabulados tendrán una mayor prevalencia de estos en comparación con caballos de establo (36), esto se refleja en nuestros resultados, pues de los ocho nuevos reportes bacterianos para *Equus ferus caballus*, cinco de ellos, fueron aislados exclusivamente de equinos que vivían en potrero, en cuanto a los nuevos reportes parasitarios para el caballo doméstico los aislamientos de *Cyclospora* sp. y *Taenia* sp., correspondían en un 88% y 75%, respectivamente, a caballos que viven en potrero, esta condición de tenencia por tanto, parece generar un incremento en la exposición y susceptibilidad a distintos agentes infecciosos (37), incluso no propios como lo son estos reportes. Se hace importante mencionar que la mayoría de estos microorganismos están asociados a otros animales como humanos y cerdos y que estamos evidenciado una contaminación de esta especie con organismos de los cuales se desconoce su potencial zoonótico y ruta de transmisión (38), las condiciones de potrero, donde en la mayoría de las veces se usa como fuente de abastecimiento de agua para los equinos el río, es un factor que contribuye a la difusión de la cisticercosis entre otras patologías (39). En cuanto a *Balanitidium* sp., a pesar de reportarse por primera vez, de manera oficial, para equinos colombianos, y tener una alta incidencia en los equinos evaluados en este estudio, no se encontró una relación entre su presencia y los factores directos o indirectos, presentándose en iguales proporciones tanto en equinos de potrero como de establo. Según Ponce & Jirk en el 2015, el equino representa un anfitrión importante en la transmisión, y representa un agente causal de patología en estos (39), sin embargo, esto no se encuentra documentado para Colombia, reportándose únicamente un caso en Cundinamarca en el año 1938 (40), del cual no hay una descripción en literatura científica.

Por otra parte, se aislaron cuatro géneros (*Allantosoma* sp., *Blepharocorys* sp., *Cycloposthium* sp. y *Bundleia* sp.) no aislados antes para *Equus ferus caballus* en Colombia, estos fueron reportados por primera vez para Sur América en Brazil en el presente año (41) y para Centro América (México) en 2006 (42). Estos protozoos se consideran comensales en equinos, sin embargo, la información para estos alrededores del mundo es escasa, siendo mayormente reportados en el continente asiático (43). En caso de *Allantosoma* sp., se conoce que es parásitos de otros ciliados (44), lo que podría ser un mecanismo de control para posibles ciliados patógenos o hasta bacterias, pues según Laho et al., 2013 (45) los ciliados podrían cumplir un papel importante en la modulación de la población bacteriana. A pesar de que estos organismos se consideran comensales en equinos se ha reportado *Cycloposthium* sp. como causante de colitis eosinofílica y hepatitis, relacionado con una sobrepoblación de este protozoo en asociación con otro (46). En estudios anteriores (47) se ha reportado como el género más frecuente asociado al tracto gastrointestinal a *Blepharocorys* sp., esto coincide con nuestros resultados, presentándose este género como el más frecuente con un porcentaje del 21%.

La amplia diversidad de organismos reportados en este estudio hace que se vuelva importante hacer énfasis en el uso del excremento de equino como fertilizante para comestibles y pastizales, el uso, comercialización y transporte de abonos orgánicos en Colombia se encuentra regulado por el ICA mediante la Resolución 1937 de 2003, sin embargo esta resolución hace énfasis de manera exclusiva a abonos generados a partir de excremento de pollo o gallina (48), por lo que en realidad otro tipo de abonos orgánicos no tienen regulación alguna, dándose lugar a posible diseminación y contaminación de cultivos de comestibles o pastizales, pudiendo generar brotes que comprometan la salud pública o la economía del sector agrícola, esto teniendo en cuenta que bajo nuestros hallazgos, bacterias como *A. tumefaciens* puede perjudicar los cultivos comportándose como fitopatógeno y siendo reconocido como responsable de importantes pérdidas económicas en el sector agrícola (49), así como otras bacterias perjudiciales para la salud y cuya mecanismo de transmisión se da por consumo de alimentos frescos como es el caso de *B. cereus*, el cual posee alta resistencia a condiciones adversas en el ambiente, siendo incluso invulnerable a procesos de cocción y pasteurización, en Colombia se han reportado pocos casos de intoxicación por este patógeno pero se cree que existe un subregistro por lo que

se recomienda aumentar la vigilancia (50), del mismo modo los alimentos frescos pueden ser un vector mecánico para infección por parásitos como *Cyclospora* sp., para el cual ya se han reportado casos por este mecanismo (37), Strongyloides, causante de strongyloidosis, la cual se considera una parasitosis subdiagnosticada y es necesario la evaluación de su impacto zoonótico (51).

Conclusiones

- Se hace el reporte de nuevas bacterias aisladas a partir de la materia fecal de *Equus ferus caballus*, siendo *P. oryzihabitans*, *Shigella* sp., *L. aquatica*, *S. porcinus*, *L. citreum* y *B. cereus* determinadas como patógenas para el hombre, además de *S. uberis*, *B. pumilus*, *A. tumefaciens*.
- Se reportan nuevos parásitos aislados a partir de la materia fecal de *Equus ferus caballus* para el país: *Allantosoma* sp., *Blepharocorys* sp., *Cycloposthium* sp, *Bundleia* sp y para la especie: *Cyclospora* sp y

Taenia sp.

- Se evidenció relación significativa entre los factores evaluados y algunos microorganismos aislados siendo los factores indirectos los más relevantes para la explicación del modelo.
- Se evidenció diferencias entre las características y los aislamientos dependiendo del lugar de tenencia del equino.

Conflicto de intereses y financiación

Para esta investigación se constata la inexistencia de conflicto de intereses.

Financiación: Este estudio fue posible gracias al apoyo financiero de la línea de microbiología ambiental del grupo GICBE (Grupo de investigación en ciencias básicas y educación) y la línea de parasitología del grupo GEPAMOL (Grupo de investigación en parasitología molecular), de la universidad del Quindío.

Referencias

1. Gálvez A. (2011) La complejidad de las relaciones de los microorganismos con organismos superiores. En: la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental. Andalucía: Anales; 24 (1):34-43
2. Guarner F. (2007) Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutr Hosp.* 22(2): 14-18.
3. Ingraham, JL., & Ingraham, CA. Los microorganismos y la salud humana. En: Ventosa A, coordinador. Introducción a la microbiología. Barcelona: Reverté; 1998. Pp. 331-350
4. Morales P, Brignardello J, Gotteland M. (2010) La microbiota intestinal: Un nuevo actor en el desarrollo de la obesidad. *Rev Med Chil.* 138(8): 1020-1027.
5. Cisneros L (2004). La microbiota humana como estrategia farmacológica en el entorno regulatorio europeo. Repositorio UCAM. Disponible en <http://repositorio.ucam.edu/bitstream/handle/10952/2496/Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Gómez G. LF, Atehortua H. CG, Orozco Padilla SC . (2007) La influencia de las mascotas en la vida humana. *Rev Colomb Ciencias Pecu.* 20(3): 377-86.
7. Giraldo MI, Garcia NL, Castaño JC. (2005) Prevalencia de helmintos intestinales en gatos domésticos del departamento del Quindío, Colombia. *Biomédica.* 32(3): 1-7.
8. Costa MC, Silva G, Ramos R V., Staempfli HR, Arroyo LG, Kim P, et al. (2015) Characterization and comparison of the bacterial microbiota in different gastrointestinal tract compartments in horses. *Vet J.* 205(1): 74-80.
9. Romero, J; Medellín R. 2005 *Equus caballus* Linnaeus , 1758, Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Equuscaballus00.pdf>
10. Sancho V. (2015) Evaluación de la digestibilidad de la coseta seca de remolacha en equinos. Repositorio Uchile. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/140713/Evaluacion-de-la-digestibilidad-de-la-coseta-seca-de-remolacha-en-equinos.pdf?sequence=1>
11. Bedoya R. MÁ, Arcila Q. VH, Díaz A. DA, Reyes P. EA. (2011) Prevalencia de parásitos gastrointestinales en équidos del municipio de Oiba (Santander). *Rev Spei Domus.* 7(15): 17-23.
12. Cardona E, Choperena M, Quijano J, López G. (2005) Caracterización de nemátodos gastrointestinales de equinos que llegan a la central ganadera de Medellín. *Rev Col Cienc Pec.* 18(4): 1-15

13. Parra Flórez AD, Mateus Valles JG. Incidencia de parásitos internos en equinos de la Sabana de Bogotá. Bogotá: Instituto Colombiano Agropecuario. 1971 disponible en: <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=bacdig.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=003888>
14. Benavides J, Arias W, Ruiz J, Sánchez J, Cuartas J, Benavides G. (2009) *Anoplocephala perfoliata* en el noroccidente de Colombia. *Arch Med Vet.* 40(3): 309-13.
15. Castillo C., Jiménez, S., Pérez, L., (2015) Mira, J. Parasitismo gastrointestinal y pulmonar en caballos cocheros del municipio de Caldas, Antioquia, Colombia. *J. Agric. An. Sci.* 4(1), 18-25.
16. Göçmen, B., Güreli, G., Dehority, B. Fecal ciliate composition of Cypriot domestic horses (*Equus caballus* Linnaeus, 1758). *Turk J Zool.* 2010; 36(2), 163-170.
17. Peglar, M. T., Nerad, T. A., Anderson, OR. (2016) *Stenamoeba polymorpha*, a New Species Isolated from Domesticated Horse *Equus ferus caballus*. *J Eukaryot Microbiol* 63(6), 698-708.
18. Morsy, K., Bashtar, A. R., Al Quraishy, S., Adel, S. (2016) Description of two equine nematodes, *Parascaris equorum* Goeze 1782 and *Habronema microstoma* Schneider 1866 from the domestic horse *Equus ferus caballus* (Famislly: Equidae) in Egypt. *Parasitol Res.* 115(11), 4299-306.
19. Dunsmore, J. D., Sue, L. P. (1985) Prevalence and epidemiology of the major gastrointestinal parasites of horses in Perth, Western Australia. *Equine vet J.* 17(3), 208-13.
20. Romero, J. S., Villavicencio, L. P., Camejo, B. B., Ponce, J. D. M., Llorens, Y. G., Tobar, A. M. (2009) Prevalencia de las helmintiasis gastrointestinales equinas en el rancho San Vicente, provincia Camaguey. *Rev. prod. Anim* 21(1), 63-8.
21. Márquez C., Escobar, A., & Tadich, T. A. (2010) Características de manejo y conducta en caballos estabulados en el sur de Chile: estudio preliminar. *Arch. med. vet.* 42(3), 203-207.
22. Tadich, T. A., Araya, O. (2010) Conductas no deseadas en equinos. *Arch. med. vet.* 42(2), 29-41.
23. Schwerter XP. (2012) Descripción de la condición parasitaria y del manejo en equinos de tiro urbano de la ciudad de Valdivia. *Cybertesis uach: Uach; Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fvs515d/doc/fvs515d.pdf>*
24. Duque DB, Ospina C, Arango S. (2010) Corrección quirúrgica de un atrapamiento del intestino delgado en el foramen epiploico en un caballo Pura Sangre Inglés (PSI)* Caso Clínico. *Rev CES Med Vet y Zootec.* 2(2):86-94.
25. Liñeiro MVG, Petrone M V. (2010) Síndrome abdomen agudo equino. *Fvet*, Disponible en: http://www.fvet.uba.ar/fcvanterior/equinos/sindrome_abdomen_agudo_en_el_equino.pdf
26. Decuadro A, Ruiz N, Martino P, Sala T, Benech A. (2015) Neumonía en gato causada por *Enterobacter (Pantoea) agglomerans*, reporte de un caso clínico. *Veterinaria (Montev.)* 51(198): 26-31.
27. Palmezano J.M., Figueroa C.L., Rangel D.A. (2017) Bacteremia por *Aeromonas caviae* en paciente con hepatitis autoinmune: presentación de caso. *Med UIS.* 121-127.
28. Azalia M. Determinación de sangre oculta en heces fecales en equinos por medio de la prueba Hemocult. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”; 2009 Disponible en: <http://repositorio.uaaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2961/Azalia%20Margarita%20Garc%C3%ADa%20Samaniego.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
29. Boris S. Algunas Consideraciones Sobre Las Zoonosis y Su Epidemiología. SEDICI; 1993 Disponible en <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/30212>
30. Minsalud. Zoonosis (2019). Disponible en <https://www.minsalud.gov.co/salud/Paginas/Zoonosis%20y%20cuidado%20de%20mascotas.aspx>
31. Mendoza DC., Muñoz L., León J. (2018) Helmintos gastrointestinales en equinos de tracción urbanos de países tropicales en vía de desarrollo. *Rev Zooc* 1(1): 1-10
32. Prada G, Romero C. (2009) Determination of endoparasites genres that affect equines of casanare, through the identification of larvae. *Rev. Med. Vet* 1(18): 71-79
33. Crane M, Khallaayoune K, Scantlebury C, Christley R. A randomized triple blind trial to assess the effect of an anthelmintic programme for working equids in Morocco. *BMC Vet Res.* 2011; 7(1): 1-8
34. Chaparro J.J., Ramírez N.F., Piedrahita D., Strauch A., Sánchez A., Tobón J., Olivera M., Ortiz D., Villar D. (2018) Prevalencia de parásitos gastrointestinales en equinos y factores de riesgo asociados en varias zonas de Antioquia, Colombia. *Rev. CES Med. Zootec* 13(1): 7-16.
35. María A, Cabrera Z, Eleno G, Alves S, Ramón J, Aranzales M. (2017) Consideraciones para la toma de decisiones oportunas ante el cólico equino: ¿manejo médico o quirúrgico?. *Rev. La Salle.* 2017;

- 33: 125-36.
36. Lyons E, Tolliver S, Kuzmina T. (2010) Investigation of strongyle EPG values in horse mares relative to known age, number positive, and level of egg shedding in field studies on 26 farms in Central Kentucky. *Parasitol Res* 110(6): 2237-2245.
 37. Botero J., Montoya M., Barguil J., Castaño A. (2006) Brote epidémico por *Cyclospora cayetanensis* en Medellín, Colombia. *Rev. Salud Pública* 8(3): 258-268.
 38. Acha P., Szyfres B. (2005) Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre. *Rev. Esp. Salud Publica.* 79(3): 423-423.
 39. Ponce F., Jirk K. *Balantidium coli*. Global Water Pathogen Project. Part 3 Protists. Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO. 2017 Disponible en: <https://www.waterpathogens.org/book/balantidium-coli>
 40. Reyes RV. (1938) Parásitos de los animales domésticos en Colombia. *Rev. Med. Vet. Zoot* 8(71): 17-29.
 41. Cedrola F., Bordim S., D'agosto M., Dias R. (2019) Intestinal ciliates (Alveolata, Ciliophora) in Brazilian domestic horses (*Equus caballus* L.) and a review on the ciliate communities associated with horses around the world. *Zootaxa* 4585(3): 478-88.
 42. Güiris A, Rojas H, Berovides A, Sosa P, Pérez E, Cruz A et al. (2010) Biodiversity and distribution of helminths and protozoa in naturally infected horses from the biosphere reserve "La Sierra Madre de Chiapas", México. *Vet Parasitol.* 2010; 170(3-4): 268-77.
 43. Gürelli G, Göçmen B. (2011) Intestinal ciliate composition found in the feces of the Turk rahvan horse *Equus caballus*, Linnaeus 1758. *Eur J Protistol* 47(4): 245-55.
 44. Encyclopedia Britannica. Suctorian Protozoan. Britannica. 2019 [Consultado 13/Diciembre/2018] Disponible en: <https://www.britannica.com/science/suctorian>
 45. Laho T, Váradyová Z, Mihaliková K, Kišidayová S. (2013) Fermentation capacity of fecal microbial inocula of Przewalski Horse, Kulan, and Chapman Zebra and polysaccharide hydrolytic activities of fecal microbial constituents (ciliates and bacteria) of Kulan and Chapman Zebra. *J Equine Vet Sci.* 33(3): 143-49.
 46. French R, Meier W, Zachary J. (1996) Eosinophilic colitis and hepatitis in a horse with colonic intramucosal ciliated protozoa. *Vet Pathol* 33(2): 235-238.
 47. Beł ecki G., Miltko R., Michałowski T., McEwan N. (2016) Methods for the cultivation of ciliated protozoa from the large intestine of horses, *FEMS Microbiol Lett* 363 (2): 1-4.
 48. ICA. Política nacional para la racionalización del componente de costos de producción asociado a los fertilizantes en el sector agropecuario. ICA. 2009 Disponible en: <https://www.ica.gov.co/getattachment/b527d0c9-e862-4c26-8347-e5076fd9b1a9/2009CP3577.aspx>
 49. Valderrama A., Arango R., Afanador L. (2005) Transformación de plantas mediada por agrobacterium: "ingeniería genética natural aplicada, *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín* 58(1): 2569-2585
 50. Sánchez J, Correa M, Castañeda L. (2016) *Bacillus cereus* un patógeno importante en el control microbiológico de los alimentos. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública* 34(2): 230-242.
 51. Uribarren T. (2011) Strongyloidosis o estrogiloidiosis o estrogiloidiasis. *Facmed unam* 2011 Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/strongyloidosis.html>