UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN.

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

CARRERA DE BIOANÁLISIS CLÍNICO

Monografía para optar al título de Licenciatura en Bioanálisis Clínico

"Factores de riesgos asociados a infecciones sintomáticas por *Giardia lamblia*, en niños menores de 3 años pertenecientes a la zona sureste de la ciudad de León, en el periodo de Julio 2017- Julio 2021."

Autores:

Br. Jimmy Javier Blandón Zelaya

Br. Brayan José Padilla Blanco.

Br. Katerine Ninoska Valladares Tenorio.

Tutores:

MSc. Yaoska Reyes Berríos.

Profesor Titular

Departamento de Microbiología y Parasitología UNAN-León

MSc. Lester Gutiérrez Pérez.

Asistente de Investigación

Centro de Enfermedades Infecciosas (CEI)

Noviembre, 2022

¡A la Libertad por la Universidad!

AGRADECIMIENTOS

- Dios por habernos dado salud, vida y permitirnos llegar hasta esta etapa de nuestras vidas, además de su infinita bondad y sabiduría que nos permite cumplir con este objetivo, así mismo por haber puesto en nuestro camino aquellas personas que han servido de soporte y compañía durante todo el periodo de nuestra carrera.

- Nuestra familia por su compresión y estimulo constante, además de su apoyo incondicional a lo largo de nuestros estudios.

- Nuestros tutores MSc. Yaoska Reyes y MSc. Lester Gutiérrez por todo su esfuerzo, dedicación, conocimiento, tiempo, paciencia y apoyo brindado a lo largo de este estudio.

- Dr. Filemón Bucardo, Dra Sylvia Becker-Dreps investigadores principales de la cohorte SAGE.

- Equipo SAGE, quienes llevaron a cabo paso a paso la recolección de información y muestras biológicas.

- Ing. Christian Toval-Ruiz por su apoyo y tiempo en la obtención de los datos epidemiológicos.

- Todo el personal del Laboratorio de Microbiología y Parasitología que de manera directa e indirecta estuvieron involucradas en la realización de este estudio.

DEDICATORIA

- A Dios por ser nuestro creador y por darnos la fortaleza de haber llegado hasta este momento tan importante de nuestra formación profesional.

- A nuestros padres, ya que son nuestro pilar fundamental y apoyo en nuestra formación académica.

- Familia, amigos y todas las personas que contribuyeron hacer posible este gran logro.

RESUMEN

Introducción: *Giardia lamblia (G. lamblia*) es uno de los parásitos intestinales en humanos más comunes a nivel mundial; se estima que alrededor de 300 millones de personas se ven afectadas por la giardiasis cada año, estas infecciones en infantes han sido asociadas a diversas secuelas como retardo del crecimiento en niños, retardo cognitivo y alteración en la permeabilidad intestinal.

Objetivo: Determinar los factores de riesgos asociados a la infección de *G. lamblia*, en niños menores de 3 años, pertenecientes a la zona sur-este de la ciudad de León, en el periodo de Julio 2017- Julio 2021

Metodología: Estudio de caso (23) y control (46) anidado, pareados 1:2 por sexo y edad (+/- 1 mes). La presencia de *G. lamblia* en muestras de heces se realizó mediante PCR en tiempo real. Las variables clínicas fueron descritas en tablas de frecuencia y las variables epidemiológicas asociadas se determinaron mediante probabilidad de riesgo (OR) binominal y un análisis de regresión logística multivariada para eliminar variables de confusión usando programa de SSPS versión 22.

Resultados: La mayoría de los casos presentaron diarrea aguda (82.6%), con deposiciones de 5-6 veces al día (39.1%). La presencia de vómito y fiebre solo se reportó en tan solo el 21.7% de los casos, y ninguno de los casos requirieron atención médica primaria u hospitalaria ni administración de líquido intravenoso. El factor de riesgo que se asoció a la infección por *G. lamblia* fue necesidades básicas insatisfechas (OR=4.4, *P*=0.04), en el cual los indicadores eliminación de excretas por medio de letrinas (OR=3.9, *P*=0.11) y el nivel de educación bajo de los tutores (OR=2.0, *P*= 0.16) fueron preponderante a dicha significancia.

Conclusión: Un índice bajo en el score de necesidades básicas insatisfechas es un factor de riesgo asociado a diarrea por de *G. lamblia*. Los indicadores: el tipo de eliminación de excreta (letrina) y escolaridad del tutor (baja) tienen un impacto significativo en el riesgo de la diarrea por *G. lamblia*.

ÍNDICE

Página

1. INTRODUCCIÓN 1
2. ANTECEDENTES 2
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 4
4. JUSTIFICACIÓN 5
5. OBJETIVOS 6
6. MARCO TEÓRICO 7
   6.1 Historia 7
   6.2 Taxonomía 8
   6.3 Morfología 9
   6.4 Ciclo Biológico 9
   6.5 Epidemiología 10
   6.6 Factores de riesgo 11
   6.7 Patogenia 13
   6.8 Manifestaciones Clínicas 16
   6.9 Métodos Diagnósticos 16
7. DISEÑO METODOLÓGICO 19
8. RESULTADOS 26
9. DISCUSION 34
10. CONCLUSIONES 37
11. RECOMENDACIONES 38
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 39
13. ANEXOS 43

1. INTRODUCCIÓN

Giardia lamblia (G. lamblia) es uno de los parásitos intestinales en humanos más comunes a nivel mundial; se estima que alrededor de 300 millones de personas se ven afectadas por la giardiasis en todo el mundo cada año y la prevalencia de la misma es mayor en las regiones con mala higiene. [(1)]

Las parasitosis intestinales más comunes pertenecen al grupo de los protozoos siendo *G. lamblia* también llamado *G. duodenalis* o *G. intestinalis* protozoo flagelado que provoca giardiasis. La giardiasis afecta principalmente a niños de 1 a 5 años por ser más susceptibles a cualquier infección, causando una importante morbilidad tanto en países desarrollados como subdesarrollados. *G. lamblia* es capaz de causar un cuadro clínico severo, pero también puede producir sintomatología leve de tipo gastrointestinal, muchas veces puede no ser diagnosticada y por ende no es tratada certeramente, todo esto puede conllevar a secuelas que han sido comúnmente asociadas a las infecciones por *G. lamblia*, como déficit del crecimiento, déficit cognitivo y alteración en la permeabilidad intestinal. Por lo tanto, la giardiasis sigue siendo un problema de salud pública principalmente en niños y población que no cuentan con una adecuada infraestructura sanitaria y/o carecen de práctica de norma de higiene como lavado de manos, lugar de deposición de excretas, la ingesta de agua no tratadas, vivir en hacinamiento, entre otros. [(1,2,3)]

Por todo lo antes mencionado es de gran importancia desarrollar un estudio que permita determinar los factores de riesgos asociados a la presencia *G. lamblia* y que aporte datos epidemiológicos actuales sobre la situación de dicho parásito en el sector sur-este del municipio de León, así mismo brindar una base de información para estudios posteriores y para estudios de intervención.

2. ANTECEDENTES

Las parasitosis intestinales causada por protozoarios y helmintos han sido un problema de salud pública en países desarrollados y en vías de desarrollo a nivel mundial, siendo la parasitosis capaz de presentar una grave situación de salud para un individuo, sino se realiza una detección temprana y se da un tratamiento eficaz, teniendo casos donde se puede comprometer la vida del paciente.

Zajaczkowski P y cols (2018) En Nueva Gales del sur (Australia) realizaron un estudio de tipo caso-control a un total de 190 pacientes ya confirmados con *G. lamblia*, donde obtuvieron como factores de riesgos: tener menos de 5 años (OR=7.08, IC 95% 1.02-49.36), tener algún miembro de la familia diagnosticado con una enfermedad gastrointestinal (OR=15.89, IC 95% 1.53-164.60) y el tener contacto con animales de granja, doméstico o fauna silvestre (OR=3.03, IC95% 1.08-8.54). **(4)**

Cociancic P y cols (2019) en La Plata (Argentina) realizaron un estudio para determinar prevalencia de parasitosis y factores de riesgo en infantes y juveniles, utilizando las técnicas de sedimentación y flotación en un total de 398 individuos, donde obtuvieron como resultado una parasitosis total de 70.9%, atribuible a *G. lamblia* (17.6%). Cuyos factores de riesgo fueron: casas construidas con materiales improvisados (OR = 2.6) y pisos de tierra (OR = 3.5), falta de agua potable (OR = 2.1), servicio público de recolección de residuos (OR = 2.2) y vivir en zona no urbana (OR = 2.4). **(5)**

Puebla LJ y cols (2017) En la región central de Cuba realizaron un estudio transversal para determinar prevalencia y factores de riesgos de la infección por *G. lamblia* en 417 preescolares. Obteniendo como resultado la prevalencia de 10.79% cuya identificación se dio mediante la amplificación de un fragmento del gen triosa fosfato isomera (TPI). Los factores de riesgo identificados fueron: uso de recursos de agua no segura (OR 2.9; IC 1.2-6.8) y mantener perros en casa (OR 2.5; IC 1.2-5.4). **(6)**

Solano-Barquero M y cols (2018) en la Región central sur de Costa Rica realizaron un estudio transversal para determinar la prevalencia de parasitosis en niños de 1-7 años y la relación de ésta con factores socioeconómicos. Las muestras fueron analizadas por

frotis directo y Kato-Katz. El protozoario patógeno más frecuente fue *G. lamblia* (8,0%). Se observó que el vivir en una casa con una pared de material de desecho o zinc (OR=3,0, IC 95%: 2,2-4,2), vivir en una vivienda no adecuada (vivienda indígena, cuarto en cuartería, tugurio, casa móvil, pensión o convento (OR=2.6, IC 95%: 1.9-3.7), vivir en una casa con piso de tierra (OR=1.9 IC 95%:1.1-3.5), tener una familia con más de 4 miembros (OR=1.4 IC 95%: 1.1-1.8) y una edad >5 años (OR=1.4 IC 95%:1.1-1.7) se asociaban con la presencia de parásitos. **(7)**

En Nicaragua *Muñoz-Antoli C y cols*, en el año 2018, realizaron un estudio con el objetivo de determinar la prevalencia de parasitosis intestinales en infantes con muestras fijadas en formalina al 10%, siendo observadas mediante una técnica de formol-acetato, el estudio reveló una prevalencia parasitaria de 68.2% en la zona del pacífico, con prevalencia de *G. lamblia* (31,7 %); **(8)** así mismo *Muñoz-Antoli C y cols,* en 2022 reportó una prevalencia parasitaria del 97.0% en la Región Caribe Norte, la prevalencia de *G. lamblia* (45,3%). Utilizando métodos de Kato-katz, solución de formalina al 10% y Ziehl-Neelsen modificada. **(9)**

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuáles son los factores de riesgos asociados a las infecciones sintomáticas por *G. lamblia*, en niños menores de 3 años, pertenecientes a la zona sureste de la ciudad de León, en el periodo de Julio 2017- Julio 2021?

4. JUSTIFICACIÓN

G. lamblia es uno de los patógenos causantes de parasitosis intestinal, el cual según la Organización Mundial de la Salud (OMS) se ubica entre las enfermedades olvidadas. Está demostrado que este parásito es frecuente en niños preescolares y se ha asociado a distintos efectos adversos como disminución en la velocidad del crecimiento, desarrollo y aprendizaje.

Aunque existen diversos estudios que han determinado como factores de riesgo: falta de agua potable, tener menos de 5 años, estar en contacto con animales domésticos, entre otros; todos estos están asociados al contagio de *G. lamblia*. En este estudio es de nuestro interés determinar cuáles son los factores de riesgo que se asocian a las infecciones sintomáticas causadas por el parásito a nuestra población de estudio, ya que de esta manera se contribuirá mejorar el conocimiento, por consiguiente, disminuir la cantidad de casos por dicho parásito en los niños.

En Nicaragua la prevalencia de la parasitosis ha sido determinada por métodos convencionales (frotis directo), lo que podría llevar a un subregistro. Actualmente en León-Nicaragua existe una cohorte llamada Gastroenteritis Aguda por Sapovirus (SAGE) que constituye una herramienta de apoyo para la gastroenteritis infantil. Usando esta cohorte se podrá determinar la presencia de *G. lamblia* por medio de un análisis molecular. Así mismo actualizar datos epidemiológicos que puedan servir para investigaciones futuras, al igual que el personal de salud y padres de familia instándoles a mejorar condiciones sanitarias y a promover medidas de higiene para mejorar la calidad de vida de estos niños.

5. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Determinar los factores de riesgos asociados a la infección de *G. lamblia*, en niños menores de 3 años, pertenecientes a la zona sur-este de la ciudad de León, en el periodo de Julio 2017- Julio 2021.

Objetivos específicos:

- Describir las características clínicas de los casos de gastroenteritis por *G. lamblia*.
- Describir las características epidemiológicas de los niños pertenecientes al estudio.
- Asociar los factores de riesgos a la infección sintomática de *G. lamblia*.

6. MARCO TEÓRICO

En la mayoría de las personas infectadas por *G. lamblia*, la parasitación cursa de manera asintomática y aproximadamente un 10% de ellas desarrolla un cuadro clínico que evoluciona a diarrea aguda o persistente [(10)], aunque esta cifra puede modificarse dependiendo del grupo de población y el área geográfica estudiada. Las infecciones son más frecuentes en niños y adultos de áreas endémicas donde las reinfecciones son muy frecuentes. [(11)]

6.1 Historia

G. lamblia fue inicialmente descrita por Van Leeuwenhoek en 1681 mientras examinaba sus propias heces diarreicas bajo el microscopio. El organismo fue descrito con mayor detalle por Lambl en 1859, quien pensó que el organismo pertenecía al género Cercomonas y lo denominó *Cercomonas intestinalis*. A partir de entonces, algunos han nombrado al género en su honor, mientras que otros han nombrado a la especie de la forma humana en su honor (es decir, *G. lamblia*). [(12)]

En 1882 y 1883, Kunstler describió un organismo en los renacuajos (*?G. agilis*) al que llamó *Giardia*, fue la primera vez que se utilizó *Giardia* como nombre de género. Continuó habiendo controversia sobre el número de especies de *Giardia* durante muchos años, y algunos investigadores sugirieron nombres de especies sobre la base del huésped de origen y otros se centraron en la morfología. Por ejemplo, se han propuesto más de 40 nombres de especies sobre la base del huésped de origen. Simon, por otro lado, usó criterios morfológicos para distinguir entre *G. lamblia* y *G. muris* y aceptó el nombre *G. lamblia* para la forma humana. En 1952, Filice publicó una descripción morfológica detallada de *G. lamblia* y propuso que se usaran tres nombres de especies sobre la base de la morfología del cuerpo medio: *G. lamblia*, *G. muris* y *G. agilis*. [(12)]

El nombre de la especie *G. lamblia* fue ampliamente aceptado durante la década de 1970. Desde la década de 1980, algunos han fomentado el uso del nombre *G. duodenalis*, y en la década de 1990, otros investigadores han fomentado el nombre *G.*

intestinalis. En este momento no parece haber una razón adecuada para abandonar el término G. lamblia, que ha sido ampliamente aceptado en la literatura médica y científica. [12]

En 1888, Blanchard sugirió el nombre *Lamblia intestinalis*, que luego Stiles cambió a *G. duodenalis* en 1902. Posteriormente, Kofoid y Christiansen propusieron los nombres *G. lamblia* en 1915 y *G. entérica* en 1920. [12]

6.2 Taxonomía

En la clasificación de los protozoos de Levine (1980), el género Giardia se incluye en el phylum Sarcomastigophora, subphylum Mastigophora, clase Zoomastigophorea, orden Diplomonadida, familia Hexamitidae que incluye un único género: *Giardia*. En este género se admiten diferentes especies, dependiendo de los criterios empleados por los diferentes autores. [11]

La taxonomía de *G. lamblia* ha sido controvertida durante muchos años. Actualmente, se reconocen como válidas siete especies; esto incluye *G. agilis* en anfibios, *G. psittaci* y *G. ardeae* en aves, *G. muris* y *G. microti* en roedores, *G. peramelis* en marsupiales y *G. lamblia* en mamíferos. [13]

Debido a su relevancia como patógeno humano y animal, la mayoría de los estudios se han centrado en la caracterización de *G. lamblia*. Estudios de isoenzima y polimorfismos de ácido nucleico, han identificado la presencia de grupos fuertemente respaldados de cepas genéticamente relacionadas (es decir, ensamblajes), a menudo derivados de huéspedes específicos. Como resultado, se reconocieron ocho ensamblajes, que tienen una distribución de huéspedes diferente: los ensamblajes A y B se encuentran en humanos y otros mamíferos, los ensamblajes C y D son específicos de perros y otros cánidos, el ensamblaje E se encuentra en animales con pezuñas, incluido el ganado, el ensamblaje F en gatos, ensamblaje G en roedores y ensamblaje H en pinnípedos. Los aislamientos humanos dentro de los ensamblajes A y B se ubicaron además en cuatro subensamblajes (ej., AI, AII, BIII y BIV) en función de la

genotipificación de múltiples locus de 18S rRNA, bg, gdh, tpi y análisis de polimorfismos de un solo nucleótido. [13]

6.3 Morfología

- **Quistes:** tiene forma ovoide, mide de 8 a 12 micrómetros en su diámetro mayor y 8 micrómetros como promedio el menor. Posee una pared quística hialina que le confiere capacidad de resistencia al medio ambiente, se encuentran inmersos varios núcleos que van de 2 a 4, dicho número dependerá del grado de madurez quística, los quistes inmaduros poseen 2 núcleos, mientras que los maduros tienen 4 núcleos en su interior. [14,15]
- **Trofozoíto:** presentan forma de gota o lágrima con simetría bilateral, el extremo anterior es ancho y redondeado, el extremo posterior termina en punta. Mide de 12 a 14 micrómetros de largo por 7 a 9 micrómetros de ancho, presentan 8 flagelos dispuestos en 4 pares simétricos. En el citoplasma se encuentran dos núcleos ovoides, con endosoma central bien diferenciado, lo que da la condición a los trofozoítos el aspecto de “cara”. [16]

6.4 Ciclo Biológico

Al ser excretados con la materia fecal y después de haber sufrido una simple división nuclear, los quistes inmaduros binucleados pasan al estado maduro tetranucleado. Después, al ser ingeridas las formas quísticas infectantes sufren un proceso de desenquistamiento, mismo que es iniciado por la acidez gástrica a un pH de 2. Como el trofozoíto es intolerante a cambios de pH y sólo tolera un rango entre 6.4 y 7.4, dicho desenquistamiento se va a completar a nivel duodenal, en ese lugar emerge, a través de la pared quística, un trofozoíto tetranucleado en proceso de división binaria que da lugar a dos trofozoítos binucleados. [17]

Cada trofozoíto se multiplica de manera activa por medio de un proceso de división longitudinal surgiendo un gran número de elementos en poco tiempo, este proceso *in vivo* puede durar de 7 minutos a 5 horas, después de lo cual los parásitos se establecen en su hábitat, constituido por el epitelio en cepillo de los dos tercios superiores del

intestino delgado, formados en parte por duodeno y yeyuno. Sin embargo, los trofozoítos también pueden llegar a localizarse en intestino grueso y vesícula biliar. [17]

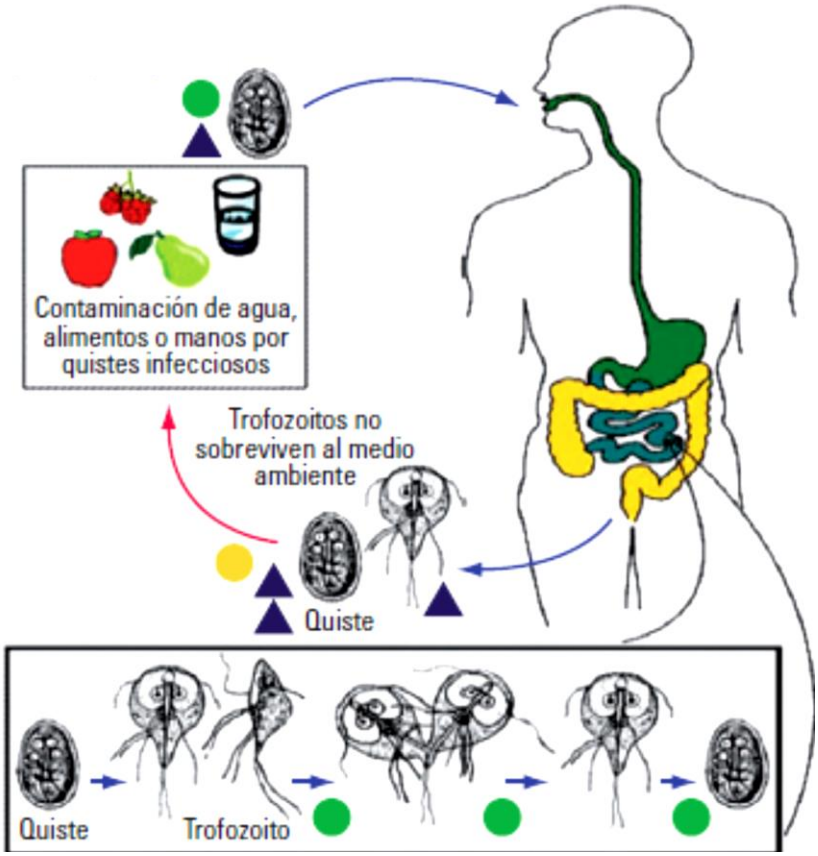


Figura 1: Ciclo biológico de *G. lamblia.* Cordero Bernabé, R.;Oliver Galera, E.; Martínez López-Tello, M.A.; Alamillo Sanz,A. (2014). Amebiasis, giardiasis y tricomoniasis. Medicine – Programa de Formación Médica Continuada Acreditado, 11(54), 3181-3193. doi.org/10.1016/S0304-5412(14)70757-7

6.5 Epidemiología

La giardiasis es una infección cosmopolita y se encuentra ampliamente distribuida en todas las latitudes y continentes, en especial en climas templados y húmedos. En la población rural de América Latina, calculada en 108 millones de personas, carentes de infraestructura básica y económica, se calcula que unos 16 millones (15%) presentan esta infección protozoaria. [18]

En Nicaragua se han realizado diferentes estudios con el objetivo de determinar la prevalencia de *G. lamblia*. Recientemente *Muñoz-Antoli y cols*, entre los años 2018-2022, reveló una prevalencia de parasitosis intestinal a nivel nacional que oscila entre (31.7 %-45.3%) utilizando métodos de concentración. [8,9] Mediante un estudio realizado en la ciudad de León-Nicaragua (2014) sobre la etiología de la diarrea infantil después de la aplicación de la vacuna contra el Rotavirus, se obtuvo que uno de los causante de gastroenteritis en niños menores de 5 años fue *G. lamblia* en un 8.0%. [10]

Es una parasitosis de clara prevalencia en niños, existen evidencias de transmisión persona a persona de la infección. Los factores de alto riesgo son: también la deficiente disposición de excreta, falta de agua potable y un bajo nivel educacional e intelectual de la madre. [14]

Las malas condiciones de saneamiento ambiental (la calidad de medios de eliminación de basuras y excreta, la presencia de moscas, los grados de contaminación fecal del agua de bebida y riego, la contaminación de alimentos), constituyen los principales factores de manutención y diseminación de la giardiasis, a ellos debe sumarse el grado de educación sanitaria de la población. Todo esto influye en el incremento de esta infección, incluyendo las piscinas comunes de condominios, la globalización y la adopción de niños procedentes de áreas endémicas trasladados a otras que no lo son. Debido a las características de su difusión, la giardiasis puede afectar a toda la familia, con niños que presentan síntomas y padres infectados, pero asintomáticos. [15]

Si se producen frecuentes reinfecciones en los infantes, a pesar de un adecuado tratamiento y de la educación sanitaria, es recomendable investigar la infección en los casos recidivantes, al manipulador de alimentos en primer lugar y de persistir esta, al resto del grupo familiar. [16]

6.6 Factores de riesgo

La mayoría de las parasitosis causadas por protozoos y helmintos del tubo digestivo del hombre, son originadas por los hábitos y costumbres higiénicas deficientes como: la práctica del fecalismo, donde las materias fecales se depositan en el suelo conteniendo

quistes de protozoos o huevos de helmintos, que son infectantes desde el momento de su expulsión o requieren de cierto tiempo para su maduración, pero que de una u otra forma el fecalismo es el disparador de la presencia de estás parasitosis en el hombre junto con otros factores, que pueden ser biológicos, tales como las características ecológicas y fundamentalmente la vegetación; físicos como temperatura, precipitación y humedad. **(19,20)**

Otros factores de riesgo para contraer parásitos intestinales son:

a) Contaminación fecal. Es el factor más importante en la diseminación de las parasitosis intestinales. La contaminación fecal de la tierra o del agua es frecuente en regiones pobres donde no existe adecuada disposición de excretas y la defecación se hace en el suelo, lo cual permite que los huevos y larvas de helmintos eliminados en las heces, se desarrollen y lleguen a ser infectantes. Las protozoarios intestinales se transmiten principalmente por contaminación fecal a través de las manos o alimentos.

b) Condiciones ambientales. La presencia de suelos húmedos y con temperaturas apropiadas, son indispensables para la sobrevivencia de los parásitos. Las deficientes condiciones de las viviendas favorecen la entrada de algunos artrópodos vectores. La existencia de aguas aptas para la reproducción de estos vectores, condicionan su frecuencia alrededor de las casas o de los lugares de trabajo. La presencia de caracoles en las aguas es indispensable para que se complete el ciclo de los tremátodos.

c) Vida rural. La ausencia de letrinas en los lugares de trabajo rural es el factor predominante para la alta prevalencia de las parasitosis intestinales en esas zonas. La costumbre de no usar zapatos y de tener contacto con aguas, condicionan la presencia de uncinariosis y esquistosomosis, transmitidas a través de la piel. La exposición a picaduras de insectos favorece la infección con parásitos transmitidos por ellos, como malaria, leishmaniosis, enfermedad de chagas, filariosis, etc.

d) Deficiencias en higiene y educación. La mala higiene personal y la ausencia de conocimientos sobre transmisión y prevención de las enfermedades parasitarias, son factores favorables a la presencia de éstas. Está bien establecido que en el mismo país, los grupos de población que presentan las deficiencias anotadas, tienen prevalencias más altas de parasitismo; estos grupos son los de nivel socio-económico inferior, que a la vez habitan zonas con deficiente saneamiento ambiental.

e) Costumbres alimenticias. La contaminación de alimentos y agua de bebida favorecen el parasitismo intestinal. La ingestión de carnes crudas o mal cocidas permite la infección por *Taenia. Toxoplasma y Trichinella.* El consumo de pescado, cangrejos, langostas, etc. en las mismas condiciones de cocción deficiente, es el factor indispensable para que se adquieran otras cestodosis y varias trematodosis.

i) Migraciones humanas. El movimiento de personas de zonas endémicas a regiones no endémicas ha permitido la diseminación de ciertas parasitosis. Esto sucede con el incremento de viajeros internacionales, migración de campesinos a las ciudades y refugiados después de catástrofes o guerras. La llegada de soldados en tiempo de guerra y la movilización de guerrilleros, ha favorecido la diseminación de algunas parasitosis. **(14,18)**

6.7 Patogenia

Evasión de la respuesta inmunológica

La comprensión del papel de los productos excretores-secretores (ESP) de *G. lamblia* en la patogénesis de la enfermedad sigue siendo incompleta.

La exposición a enterocitos del huésped activa los trofozoítos de *G. lamblia* para modificar la expresión de una amplia gama de sus genes y liberar una variedad de compuestos secretores que involucra lectinas de superficie y proteínas del parásito como giardina, proteínas de superficie específicas de variante (VSP), tenascinas y cisteína proteasas (CP) secretadas. **(21)**

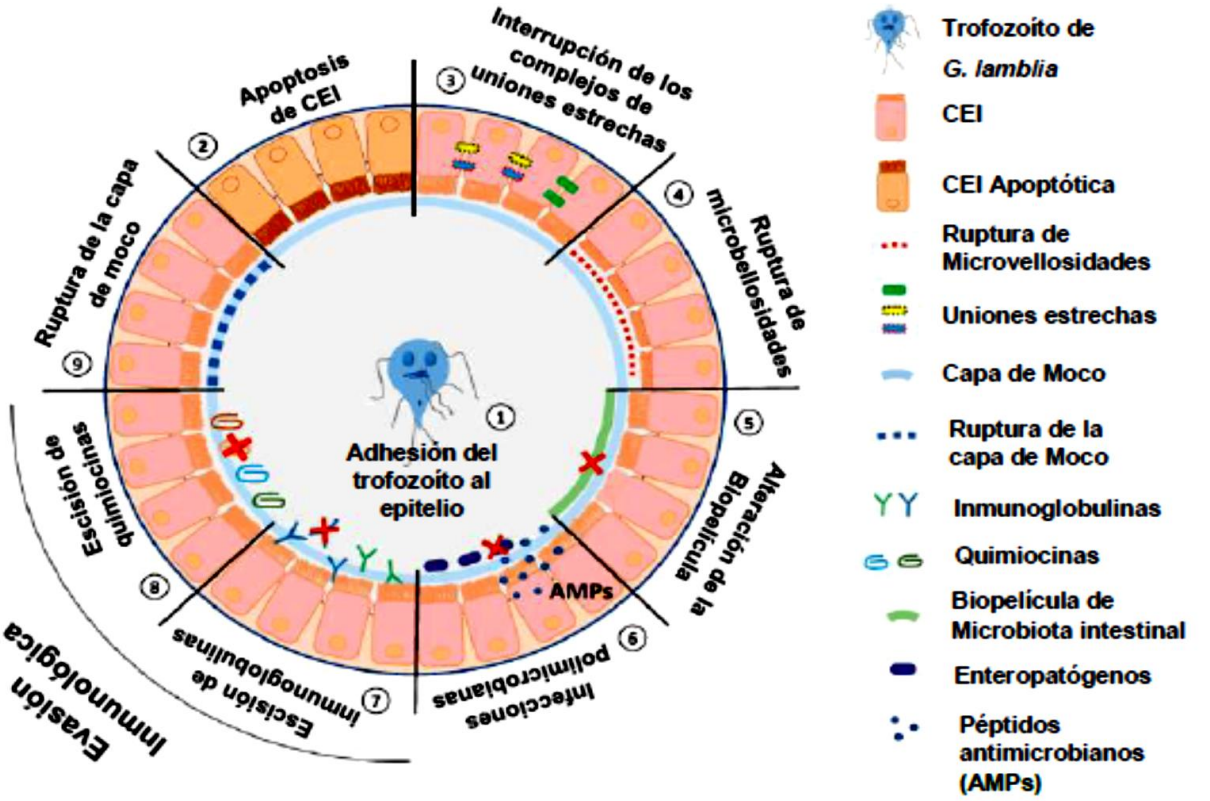


Figura 2: Interacciones huésped-parásito durante la giardiasis. Cortesía de Trends in Parasitology: Allain, T., Fekete, E., Buret, A.G., 2019. Giardia cysteine proteases: the teeth behind the smile. Trends Parasitol. 35, 636–648.

(1) Adhesión de trofozoíto al epitelio a través de lectinas de superficie de *G. lamblia*, giardinas, proteínas de superficie específicas variantes (VSP), tenascinas y CP.

(2) Inducción de apoptosis de células epiteliales intestinales (CEI) a través de la activación de caspasa-3, 8, 9, BAX y PARP.

(3) Aumento de la permeabilidad y ruptura de la barrera epitelial a través de la interrupción y alteración de los complejos de uniones estrechas, la actina filamentosa y el desmosoma.

(4) Alteración de la integridad de las microvellosidades del borde en cepillo epitelial a través de la descomposición de las vellosidades y acortamiento difuso de las microvellosidades.

(5) Alteración de las biopelículas de la microbiota intestinal y liberación de bacterias patógenas e invasivas (patobiontes) de la microbiota disbiótica.

(6) *G. lamblia* ejerce efectos antibacterianos protectores durante las infecciones polimicrobianas al promover la secreción de péptidos antimicrobianos (AMPs) del huésped (HBD-2 y TFF3).

(7–8) La degradación de los factores inmunitarios del huésped, como las quimiocinas, las inmunoglobinas y las defensinas, por parte de las CP de *G. lamblia*, contribuye a la evasión inmunitaria del parásito.

(9) Los trofozoítos de *G. lamblia* deterioran la integridad de la barrera mucosa al agotar el moco de las células caliciformes y degradar las mucinas del huésped, de manera dependiente de CP. [21]

Alteraciones de la mucosa intestinal.

Para acceder a los tejidos del huésped, los microbios intestinales deben poder cruzar la barrera mucosa que recubre la mucosa intestinal. La barrera mucosa se compone principalmente de agua y mucina MUC2, un gran polímero de glicoproteína, que forma una gruesa capa protectora en la superficie del epitelio. Cuando esta capa se interrumpe, puede provocar un deterioro de la inmunidad innata del huésped. La secuencia de eventos que conducen a la diarrea en la giardiasis incluye la inducción del parásito por la apoptosis de los enterocitos, el aumento de la permeabilidad intestinal, el acortamiento de las microvellosidades del borde en cepillo dependiente de linfocitos CD-8+, coincidiendo o no con la atrofia de las vellosidades y las deficiencias de disacaridasa.

Estos efectos se combinan con malabsorción de electrolitos, agua y nutrientes en el intestino delgado, hipersecreción de aniones y aumento del tránsito intestinal, para producir diarrea. Juntos, estos procesos están implicados, al menos en parte, en el déficit del crecimiento causado por la giardiasis, ya sea asociada con diarrea o no. [20]

6.8 Manifestaciones Clínicas

La mayor parte de casos en que se demuestra al parásito en materia fecal resultan ser asintomáticos, situación vista con mayor frecuencia en adultos que en niños.

En la etapa aguda del padecimiento es común encontrar evacuaciones diarreicas explosivas, acuosas, de olor pútrido, voluminosas, espumosas, de color amarillento o con aspecto de hierba molida que flotan en el agua del baño, en ocasiones con restos de alimentos y con la característica de que son expelidas sin dolor cólico. Sin embargo, en otras ocasiones la diarrea puede ser de presentación esporádica y con una duración superior a los 10 días.

Es común encontrar síntomas como: dolor abdominal de localización epigástrica y ocasionalmente en hipocondrio derecho y región vesicular, dicho dolor es de moderada intensidad, por lo general sin irradiaciones y cede de manera espontánea, además presenta en un gran porcentaje de los casos la característica de ser postprandial tardío. **(22,23)**

6.9 Métodos Diagnósticos

Microscopía

Convencionalmente, la detección de quistes de *G. lamblia* en muestras biológicas, duodenales, fecales, se logra principalmente mediante un examen microscópico. Una serie de características morfológicas del trofozoíto y quistes se puede usar para la identificación de *G. lamblia*. Se pueden emplear técnicas de tinción para ayudar a detectar etapas de *G. lamblia*, y su diferenciación de otros microorganismos protistas y desechos fecales o ambientales. Las tinciones más simples incluyen yodo, hierro-hematoxilina, Giemsa o tricromo. Los quistes pueden concentrarse utilizando diversos métodos, por ejemplo, formalina-etérico o formalina-acetato de etilo. Debido al carácter intermitente y, en general, al bajo nivel de excreción de quistes en la giardiasis, la sensibilidad del examen de una única muestra de heces es del 35-50%. **(23)**

Métodos inmunológicos

La detección de antígenos de *G. lamblia* en muestras fecales (es decir, coproantígenos) es otro enfoque. También se han utilizado varios inmunoensayos ligados a enzimas (incluido ELISA), que alcanzaron especificidades del 79–100% y sensibilidades del 26-100%, según el estudio. Sin embargo, la sensibilidad de los ensayos de detección de coproantígeno puede ser inferior a los enfoques microscópicos.

La variación en el rendimiento diagnóstico de diferentes ensayos puede deberse a reactividad cruzada (que afecta a la especificidad) y al desprendimiento intermitente de quistes y antígenos de *G. lamblia*, o al uso de formalina como fijador (sensibilidad reductora). La sensibilidad disminuida también puede relacionarse con un bajo número de quistes en las heces o trofozoítos en el intestino del huésped. Una desventaja de algunos kits es que se basan en una inspección visual de la intensidad de la tinción, que puede conducir a una interpretación subjetiva de los resultados de las pruebas. Las ventajas que ofrecen los métodos de coproantigenos sobre la microscopía son que tienen la capacidad de detectar infecciones (prepatentes) antes de la excreción de quistes en las heces de acogida, y pueden emplearse para el cribado rápido y rentable de un gran número de muestras fecales. Sin embargo, al igual que otras técnicas de inmunodiagnóstico o serodiagnóstico, no permiten la identificación de la especie o genotipo de *G. lamblia* que infecta a un huésped. **(12, 24)**

Métodos basados en PCR para el diagnóstico y/o análisis genético.

La PCR permite la amplificación específica de las regiones de ADN de los genomas complejos. Existen muchos métodos diferentes de PCR disponibles, y algunos métodos clave aplicados a *G. lamblia* (huella de ADN, restricción del fragmento de polimorfismo, PCR específica y secuenciación, detección de mutaciones y métodos basados en PCR de rendimiento moderado a alto). Central a la aplicación efectiva de las técnicas de PCR para el aislamiento de ácidos nucleicos muestras biológicas o ambientales, que también eliminan de manera efectiva y consistente los componentes inhibidores de la PCR. Se han evaluado numerosos métodos e incluyen el uso de sonicación, ciclos de

congelación/descongelación, perlas de vidrio y/o extracción de fenol/cloroformo, seguido de precipitación con etanol y/o kits de extracción comercial, como QIAamp (Qiagen, EEUU). Sin embargo, los métodos de aislamiento y purificación del ADN requieren una evaluación crítica para cada aplicación distinta y la matriz biológica que se está probando, para garantizar que se minimice la inhibición de la PCR. **(24,25)**

7. DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio: Estudio de caso-control anidado.

Periodo del estudio: Julio 2017 – Julio 2021.

Área de estudio: La zona sur-este de la ciudad de León, cubierta por el Centro de Salud Perla María Norori que incluye vigilancia en 14 puestos urbanos.

Población de estudio: 444 niños de ambos sexos enrolados en el estudio de cohorte de Gastroenteritis por Sapovirus (SAGE).

Muestra de estudio: Un total de 69 niños del proyecto SAGE, de los cuales 23 fueron casos y 46 controles.

Muestreo: No probabilístico por conveniencia.

Definición de caso: Niños menores de 3 años con episodio de diarrea asociado a *G. lamblia*.

Definición de control: Niños menores de 3 años asintomáticos (sin diarrea) pareado en una proporción 1:2 por sexo y edad (+/-1 mes).

Recolección de la información: Todos los datos clínicos y sociodemográficos fueron obtenidos de las fichas de recolección de la cohorte SAGE, como parte de la vigilancia de los niños se recolecta una ficha mensual, además de los casos de gastroenteritis. (Ver anexo 1 y 2)

Recolección de la muestra: Las muestras fueron recolectadas en frascos estériles o pañales desechables mensualmente y cuando se reportó un caso de diarrea; éstas fueron transportadas al Laboratorio de Investigación del Centro de Enfermedades Infecciosas (CEI) de la UNAN-León por el personal de campo de la cohorte SAGE; donde se realizaron suspensiones 1/10 con PBS 1X. Éstas suspensiones fueron almacenadas a -20ºC hasta su procesamiento.

Procesamiento de las muestras:

Procesamiento de la extracción de ADN: El ADN fue extraído de la suspensión de heces utilizando el QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (50) (cat. No. 51604) siguiendo las especificaciones del fabricante. Se tomó 200 µl de la suspensión y se mezcló con una

solución buffer que contiene sales caotrópicas que favorecen la unión de los ácidos nucleicos a la superficie de las partículas de vidrio (Binding Buffer). Luego se realizó dos pasos de lavado (Wash Buffer) que permitieron remover sales, proteínas y otras enzimas. Finalmente, los ácidos nucleicos fueron eludidos con un buffer que contiene agua libre de nucleasas y concentraciones bajas de sal. Un total de 200 µl de ADN aislado fue obtenido y guardado a -20ºC hasta su posterior análisis.

Nota: El prospecto original del kit fue modificado; se le añadió el uso de las glass beads en los crioviales antes de la extracción de ADN para una mejor lisis de las heces fecales. (Ver anexo 3)

Análisis de PCR:

PCR en tiempo real para *G. lamblia* basado en Taqman. En síntesis, se realizó una mezcla de 25 µl, de los cuales se utilizó 3 µl de ADN y se mezcló con 12 µl de Bio-Rad iQ Multiplex Powermix, 1 µl de la mezcla de los primers 1µM para detectar 18S *G. lamblia* (F 5'-GAC GGC TCA GGA CAA CGG TT-3', R 5'-TTG CCA GCG GTG TCC G-3', P 5'- FAM- CCC GCG GCG GTC CCT GCT AG-3') y 9 µl de agua libre de nucleasa. Para el PCR en tiempo real se utilizó ROCHE LIGHT CYCLER con las siguientes condiciones: 3 minutos a 95ºC para la desnaturalización inicial, luego 40 ciclos de 95ºC por 10 segundos, y a 60ºC por 1 minuto, momento donde se realizó la lectura de la fluorescencia. (Ver anexo 4)

Análisis Estadístico: Los datos obtenidos fueron introducidos en una base de datos diseñada en el programa SPSS versión 22. Las características clínicas y epidemiológicas fueron presentadas como medidas de frecuencias para datos cualitativos (nominal u ordinal) y medidas de tendencia central ($\mathcal{X}$ ± DS) para datos cuantitativos.

Se llevó a cabo el análisis de casos y controles. Para identificar los factores de riesgo de *G. lamblia* sintomática, se seleccionó aleatoriamente dos controles para cada caso asociado a *G. lamblia* en el mismo grupo de edad que el caso (0–6 meses, 7–12

meses, 13–18 meses, 19– 24 meses, 25–30 meses y 31-36 meses), sin presencia de síntomas de gastroenteritis. Los factores de riesgo clínico-epidemiológicos y los datos de infecciones por *G. lamblia* fueron determinados usando un sistema de regresión log-binominal donde las variables fueron ensayadas individualmente en el modelo antes mencionado, se utilizó tablas de contingencias 2 X 2 para la prueba de chi cuadrado (X^2) y probabilidad de riesgo como medida de asociación a un nivel de confianza del 95% y una significancia empleando un valor P≤ 0.05. Se realizó cruce entre variables epidemiológicas asociadas mediante un análisis de regresión logística multivariada para eliminar variables de confusión.

Consideraciones Éticas: Para la realización de este estudio se contó con la aprobación del investigador principal de la cohorte SAGE, la cual fue aprobada por el comité de ética para las investigaciones biomédicas de la UNAN-León, Nicaragua (Acta.N° 2, enero 2017). (Ver anexo 5)

Al ser participantes menores de edad se obtuvo un consentimiento informado de los padres o tutores a los cuales se le explicó el objetivo del estudio

Operalización de las variables

Variables	Definición	Indicador	Escala
Género	Categoría gramatical por la cual las personas se clasifican por sexo. En base a sus características físicas.	Ficha de recolección de datos.	Masculino Femenino
Edad	Tiempo que una persona ha vivido desde su nacimiento.	Ficha de recolección de datos.	0-6 meses. 7-12 meses. 13-18 meses. 19-24 meses. 25-30 meses. 31-36 meses.
Diarrea	Tres o más deposiciones líquidas o Acuosas en un periodo de 24 horas en los últimos 7 días.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Tipo de diarrea	Periodo de tiempo en el que transcurre la diarrea.	Ficha de recolección de datos.	Diarrea Aguda (<2 semanas) Diarrea Persistente (2-4 semanas)
Deposiciones	Número máximo de deposiciones por un periodo de 24 horas desde que comenzaron los síntomas.	Ficha de recolección de datos.	>1 deposición, 1-2 deposiciones, 3-4 deposiciones, 5-6 deposiciones, <6 deposiciones.
Hematoquecia	Deposiciones de heces con sangre fresca.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Vómito	Fenómeno caracterizado por la expulsión violenta del contenido del estómago a través de la boca.	Ficha de recolección de datos.	Si No

Fiebre	Aumento de la temperatura corporal por encima de 37,5°C.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Atención médica	Conjunto de atenciones en Puesto de Salud/ Hospital que proporcionan los médicos en caso de enfermedad.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Tratamiento con Zinc	Suplemento que disminuye los episodios de diarrea.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Tratamiento para Gastroenteritis	Fármacos utilizados para contrarrestar los síntomas de gastroenteritis.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Líquido Intravenoso	Suministro de medicamentos directamente a la vena mediante bránula o scalp.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Atención Primaria	Servicio de salud que trata las enfermedades más comunes y las previene.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Atención Hospitalaria	Servicio de salud que presta las condiciones para tratar todo tipo de enfermedades y especialidades.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Hospitalización	Ingreso de una persona enferma o herida en un hospital para su pronta recuperación.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Alimento fuera de casa	Ingesta de alimentos fuera de casa en los últimos 7 días.	Ficha de recolección de datos.	Si No

Asistencia a guardería	Visita a guarderías o un lugar donde cuiden más de 4 niños en una misma casa en los últimos 7 días.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Amamantar	Acto de alimentar con leche materna.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Consumo de Frutas/Vegetales	Ingesta de frutas/ verduras frescas o sin cocinar en los últimos 7 días.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Animales en casa	Presencia de animales domésticos en casa.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Lavado de manos	Limpieza mecánica de las manos con agua y jabón.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Formas de agua segura	Son las maneras que se utilizan para hacer que su agua sea segura para el consumo.	Ficha de recolección de datos.	Potable No Potable
Tipo de eliminación de excretas	Sistema de eliminación de excretas.	Ficha de recolección de datos.	Inodoros Letrina
Hacinamiento	Espacios que ocupan un lugar en la casa (Habitaciones, Sala, Cocina) excluyendo baños o pasillos.	Ficha de recolección de datos.	Si No
Escolaridad del Tutor	Último grado académico aprobado por el padre o tutor.	Ficha de recolección de datos.	Ninguna de las anteriores Analfabeto Primaria Secundaria Universidad

			Profesional
Ocupación del tutor	Trabajo que desempeña para la manutención de la familia	Ficha de recolección de datos.	Pensionado Obrero Comerciante Estudiante Ama de casa Trabajo Profesional Artesano Empleada doméstica Conductor Oficina/Maestro Trabajador de Salud Trabajador industrial Otro
Necesidades Básicas Insatisfechas **(NBI)**	Es un indicador que identifica la vulnerabilidad de una sociedad en relación al acceso de la población a determinados bienes y servicios.	Ver anexo 6	No Pobre Pobre Extremadamente Pobre
Piso de la vivienda	Calidad del piso donde se camina.	Ficha de recolección de datos.	Suelo Piso Cerámica Otros

*Indicadores que conforman NBI (hacinamiento, escolaridad del tutor, ocupación de la madre o tutor, eliminación de excretas, tipo de consumo de agua y condiciones de vivienda).

8. RESULTADOS

Identificación de *G. lamblia* por método molecular

El presente estudio caso-control incluyo 23 casos y 46 controles seleccionados de una cohorte de 444 niños menores de 3 años, residentes de la zona sureste de la ciudad de León. En la cohorte se recolectaron 1397 muestras diarreicas a lo largo del estudio, de las cuales 279 fueron analizadas por PCR en tiempo real, y 23 (8.42%) de estas resultaron positivas para *G. lamblia (ver flujograma 1)*. Los casos y controles fueron pareados por sexo y edad 1:2 (+/- 1 mes), el 56.5% de los niños fueron del sexo masculino y las edades entre 13 a 18 meses fueron mayormente afectada por la giardiasis. *(Ver gráfico 1)*

Flujograma N°1: Obtención de casos de la población en estudio.

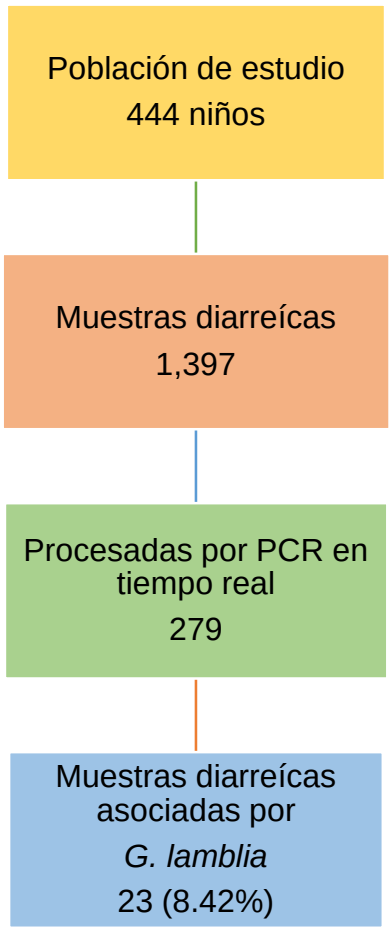
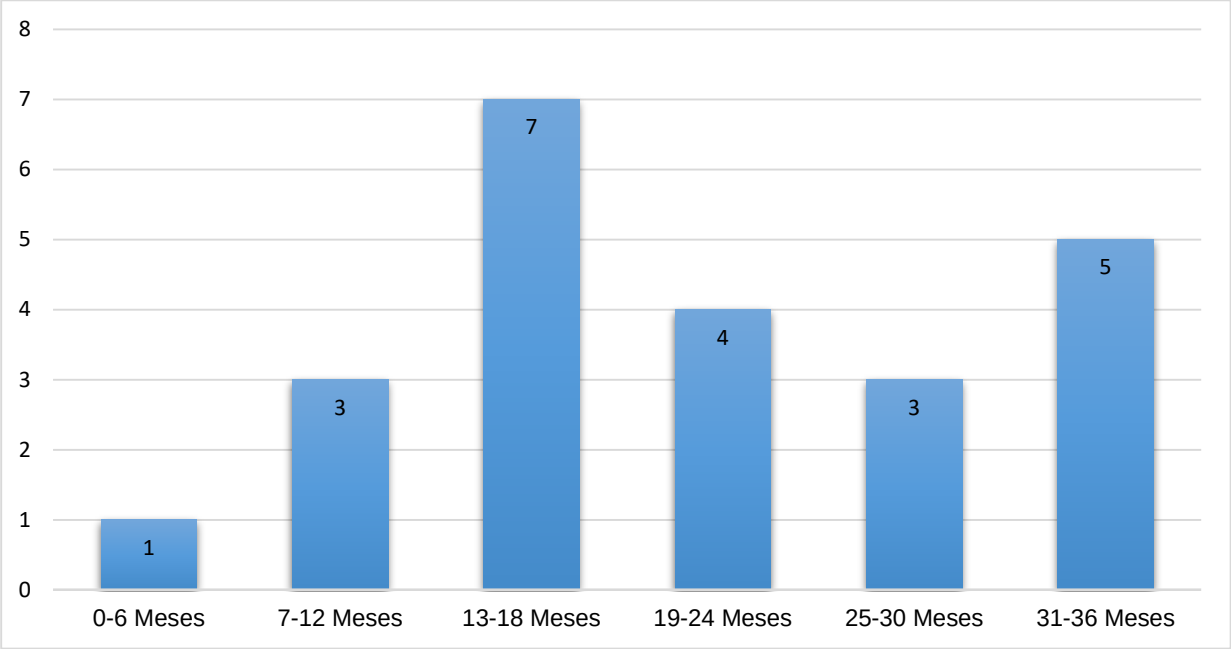


Gráfico nº 1. Distribución de casos de diarrea asociados a *G. lamblia* según edad.



Características Clínicas. Entre los 23 casos de diarrea con presencia de *G. lamblia* el (82.6%) se clasificaba como diarrea aguda y el (17.4%) como diarrea persistente. Un 39.13% de los niños con estos episodios presentaron de 5-6 deposiciones al día, solo un 1/23 (4.35%) presentaron sangre en las heces (Hematoquecia). Otros síntomas presentados por estos niños incluyen vómito 5/23 (21.74%) y fiebre 5/23 (21.74%). Un 16/23 (69.6%) recibió tratamiento contra la gastroenteritis, pero solo un 1/23 (4.35%) recibió atención médica. Cabe destacar que ninguno de los casos recibió líquido intravenoso, ni tampoco fue hospitalizado. *(Ver tabla 1)*

	N° casos (n=23)	%
Diarrea	23	(100%)
Tipo de diarrea		
Diarrea Aguda (<2 semanas)	19	(82.6%)
Diarrea Persistente (2-4 semanas)	4	(17.4%)
Deposiciones		
3-4 al día	8	(34.78%)
5-6 al día	9	(39.13%)
>6 al día	6	(26.09%)
Hematoquecia	1	(4.35%)
Vómito	5	(21.74%)
Fiebre	5	(21.74%)
Atención Médica	1	(4.35%)
Recibió Zinc	4	(17.4%)
Recibió Líquido Intravenoso	0	(0%)
Tratamiento para Gastroenteritis	16	(69.6%)
Atención Primaria	3	(13.0%
Atención Hospitalaria	1	(4.3%)
Hospitalización	0	(0%)

Tabla 1. Características clínicas de niños menores de 3 años con episodio de diarrea asociado a *G. lamblia.*

Características epidemiológicas. Dado que el diseño del estudio es pareado 1:2, la distribución por grupo de edad y género es igual, siendo mayoritariamente pertenecientes al género masculino (56.5%) y con una edad entre 13-18 meses (30.4%). Dentro de las características más importantes encontradas está el nivel educativo de los tutores de dichos niños, en ello se obtuvo que la mayoría de los casos solo había cursado la educación primaria (52.2%), en comparación, la mayoría de los tutores en los controles alcanzaron un nivel de educación superior (58.7%). La ocupación con mayor frecuencia fue ama de casa tanto en casos (60.9%) como controles (58.7%). El no recibir lactancia materna durante el estudio fue informado por 65.2% de los casos y 63% de los controles. En cuanto a la valoración de los indicadores socio-económicos que permiten conocer si las necesidades básicas de la población están cubiertas, se encontró que el 65.2% de los casos se clasificaban como pobres, por el contrario, el 50% de los controles se clasificaron como no pobre. El 87% de los casos y el 93.5% de los controles tenían acceso a agua potable, el 60.9% de los casos utilizaba letrina como deposición de excreta en comparación con el 28.3% de los controles. El hacinamiento se observó en el 60.9% de los domicilios en comparación con el 39.1% de los controles, así mismo el 52.2% de los casos tenía piso de tierra y solo un 26.1% de los controles. La presencia de animales dentro de la vivienda fue reportada en proporciones similares en casos (65.2%) y controles (69.6%). En cuanto a hábitos, el 52.2% de los casos reporto consumir alimentos fuera de casa en comparación con 39.1% de los controles. El 100% de los tutores realizaban un adecuado lavado de manos al preparar los alimentos en casos y controles, cabe destacar que debido a la edad de los niños en estudio ninguno de ellos asistió a guarderías tanto en casos como en controles. *(Ver tabla 2)*

Tabla 2. Características epidemiológicas de los casos y controles enrolados en el estudio.

	Caso n° (%)	Control n° (%)
Lactancia materna durante el episodio		
No	15 (65.2%)	29 (63%)
Si	8 (34.8%)	17 (37%)
Forma segura de agua		
No potable	3 (13.0%)	3 (6.5%)
Potable	20 (87.0%)	43 (93.5%)
Tipo de eliminación de excretas		
Letrina	14 (60.9%)	13 (28.3%)
Inodoro	9 (39.1)	33 (71.7%)
Piso de la vivienda		
Tierra	12(52.2%)	12 (26.1%)
Barro	1 (4.3%)	8 (17.4%)
Embaldosado	7 (30.4%)	17 (37%)
Cerámica	3 (13%)	9 (19.6%)
Escolaridad del tutor		
Ninguna de las anteriores	0 (0%)	1 (2.2%)
Analfabeto	0 (0%)	0 (0%)
Primaria	12 (52.2%)	4 (8.7%)
Secundaria	7 (30.4%)	1 (2.2%)
Universidad	3 (13%)	27 (58.7%)
Profesional	1 (4.3%)	0 (0%)
Ocupación del tutor		
Pensionado	0 (0%)	1 (2.2%)
Obrero	3 (13%)	0 (0%)
Comerciante	0 (0%)	4 (8.7%)
Estudiante	3 (13%)	1 (2.2%)
Ama de casa	14 (60.9%)	27 (58.7%)
Trabajo profesional	1 (4.3%)	0 (0%)
Empleada domestica	1 (4.3%)	1 (2.2%)
Conductor	0 (0%)	2 (4.3%)
Trabajador industrial	0 (0%)	1 (2.2%)
Artesano	0 (0%)	2 (4.3%)
Otro	1 (4.3%)	7 (15.2%)
Hacinamiento		
Si	14 (60.9%)	18 (39.1%)
No	9 (39 .1%)	28 (60.9%)
Animales dentro de la casa		
Si	15 (65.2%)	32 (69.6%)
No	8 (34.8%)	14 (30.4%)

Alimentación fuera de casa		
Si	12 (52.2%)	18 (39.1%)
No	11 (47.8%)	28 (60.9%)
Consumo de frutas y/o verduras		
Si	19 (82.6%)	41 (89.1%)
No	4 (17.4%)	5 (10.9%)
Asistencia a Guardería		
Si	0 (0%)	0 (0%)
No	23 (100%)	46 (100%)
Lavado de manos		
No	0 (0%)	0 (0%)
Si	23 (100%)	46 (100%)
Necesidades básicas insatisfecha[1]		
Extremadamente pobre	5 (21.7%)	5 (10.9%)
Pobre	15 (65.2%)	18 (39.1%)
No pobre	3 (13%)	23 (50%)

1. **Indicadores de NBI: Hacinamiento, escolaridad del tutor, ocupación de la madre o tutor, eliminación de excretas, tipo de consumo de agua y condiciones de vivienda.**

Factores de riesgo asociados: Para valorar los posibles factores de riesgo asociados a la infección por *G. lamblia* en este estudio se realizó un análisis de regresión log-binominal, en el cual se encontró como variable de tendencia las necesidades básicas insatisfechas (NBI) (OR=6.6, *P*=0.06), así como la eliminación de excretas por medio de letrinas (OR=3.9, *P*=0.11) Y el nivel de educación bajo de los tutores (OR=2.0, *P*= 0.16) *(Ver tabla 3)*. Al observar dichas tendencias, estas variables fueron sometidas a un modelo ajustado multivariado, donde se estudiaron los indicadores que conforman NBI por separado, dando como resultado que eliminación de excretas en letrinas y escolaridad baja del tutor fueron los Indicadores con mayor preponderancia a la significancia de NBI (OR=4.4, *P*= 0.04) la cual se asocia a la infección por *G. lamblia*. *(Ver tabla 4).* Cabe destacar que se exploró sobre las variables confusoras (sexo) y no se encontró la necesidad de tener covariables para el análisis.

Tabla 3. Factores de riesgo asociados a la presencia de *G. lamblia*.

	Caso n° (%)	Control n° (%)	OR	IC (95%)	*P*
Lactancia materna durante el episodio					
No	15 (65.2%)	29 (63%)			
Si	8 (34.8%)	17 (37%)	1.1	0.4 -3.1	0.85
(NBI)					
Pobre	20 (87%)	23 (50%)			
No pobre	3 (13%)	23 (50%)	6.6	1.7 -25.6	**0.06**
Forma segura de agua					
No potable	3 (13%)	3 (6.5%)	2.1	0.4 -11.6	0.37
Potable	20 (87%)	43 (93.5%)			
Tipo de eliminación de excretas					
Letrina	14 (60.9%)	13 (28.3%)			
Inodoro	9 (39.1)	33 (71.7%)	3.9	1.4 -11.3	**0.11**
Piso de la vivienda					
Tierra	12(52.2%)	12 (26.1%)	3.0	1.0 -8.8	0.35
No tierra	11 (47.8%)	34 (73.9%)			
Escolaridad del tutor					
Nivel de educación bajo [1]	12 (52.2%)	16 (34.8%)	2.0	0.7-5.7	**0.16**
Nivel de educación alto [2]	11 (47.8%)	30 (65.2%)			
Ocupación (tiempo del tutor con el niño)					
Medio tiempo [3]	9 (39.1%)	19 (42.3%)	1.00	0.3-2.7	1.00
Tiempo completo [4]	14 (60.9%)	27 (58.7%)			
Hacinamiento					
Si	14 (60.9%)	18 (39.1%)	2.4	0.9 -6.7	0.91
No	9 (39 .1%)	28 (60.9%)			
Animales dentro de la casa					
Si	15 (65.2%)	32 (69.6%)			
No	8 (34.8	14 (30.4%)	0.8	0.3 -2.4	0.71
Alimentación fuera de casa					
Si	12 (52.2%)	18 (39.1%)			
No	11 (47.8%)	28 (60.9%)	1.7	0.6 -4.7	0.30
Consumo de frutas y/o verduras					
Si	19 (82.6%)	41 (89.1%)			
No	4 (17.4%)	5 (10.9%)	0.6	0.1 -2.4	0.45
Asistencia a guardería					
Si	0 (0%)	0 (0%)			
No	23 (100%)	46 (100%)			
Lavado de manos					
No	0 (0%)	0 (0%)			
Si	23 (100%)	46 (100%)			

1. **(Ninguna de las anteriores, Analfabeto, Primaria).**
2. **(Secundaria, Universidad, Profesional).**
3. **(Aquellos que trabajan 8 horas laborales).**
4. **(Ama de casa , Pensionado)**

Tabla 4. Análisis de regresión logística multivariada.

	OR CRUDO [a]			OR AJUSTADO [b]		
	OR	IC (95%)	P	OR	IC (95%)	P
NBI[1]	6.6	1.7 -25.6	**0.06**	4.4	1.0 -19.4	**0.04**
Tipo de eliminación de excretas (Letrinas 60.9%)	3.9	1.4 -11.3	**0.11**	1.9	0.6 -6.7	0.26
Escolaridad del tutor (bajo 52.2%)	2.0	0.7-5.7	**0.16**	1.3	0.4 -4.2	0.6

a: Modelo bivariado con variables en tendencia, sin significancia estadísticas.
b: Modelo multivariado (no incluye confusoras ni covariables que afecten su significancia)
[1] Necesidades básica insatisfecha (NBI), indicador que lo conforman (hacinamiento, escolaridad del tutor, ocupación de la madre o tutor, eliminación de excretas, tipo de consumo de agua y condiciones de vivienda).

9. DISCUSION

La giardiasis es una de las parasitosis de gran importancia en la población infantil. La gastroenteritis por *G. lamblia* se ha asociado a muchos factores, entre ellos, factores propios del huésped y condiciones higiénicas sanitarias deficientes. Se ha descrito que una proporción de niños afectados por esta patología pueden presentar déficit en el crecimiento. En el 2015 *Becker-Dreps y cols* reportaron una prevalencia de 8% de *G. lamblia* en niños con episodios de diarrea en la ciudad de León [(10)], siendo una de las mayores causas de diarrea por parásitos.

Este estudio la diarrea por *G. lamblia* se presentó principalmente como casos agudos menor de 14 días (82.6%) y con una sintomatología leve caracterizada por diarreas de 3-6 días y en algunos casos con vómito (21.74%), fiebre (21.74%) y heces con sangre (4.35%). Al igual que nuestros hallazgos, un estudio realizado por *Saura-Carretero y cols* (2021) en 190 pacientes reportaron la presencia de fiebre (22%), vómito (7%) y (10%) heces con sangre. Además, el 86% recibió tratamiento y sólo el 1% fue ingresado a un centro médico; comparándose el cuadro clínico leve al de nuestro estudio. [(27)]

Se han reportado varios factores de riesgos asociados a la infección por *G. lamblia* a nivel global. En este estudio el bajo nivel de escolaridad del tutor fue un factor de riesgo asociado, aunque no estadísticamente significativo (OR= 1.3, P= 0.6). Similar a nuestros hallazgos, un estudio en Portugal por *Júlio C y cols* (2012) encontró como un fuerte factor de riesgo el bajo nivel de escolaridad de los padres o tutores (OR = 4.49); P= 0.047). [(28)]

La eliminación de excretas usando letrinas fue otro factor asociado a la infección por *G. lamblia* en nuestro estudio (OR=1.9, P=0.26), este resultado también fue reportado por un estudio realizado en Brasil por *Teixeira JC y cols* (2007) donde demostró que las infecciones de *G. lamblia* están altamente asociado con el no tener un inodoro en la casa (OR = 2.56). [(29)]

El hacinamiento ha sido un factor de riesgo para la infección de *G. lamblia* en infantes, en este estudio el hacinamiento fue un factor asociado, pero no con significancia estadística (OR=2.4, P=0.91). *Solano-Barquero* y cols (2018) reportaron que tener más de 4 personas en la habitación influye en la presencia de dicho parásito (OR=1.4). **(7)**

El consumo de agua no potable en diversos estudios ha sido otro factor de riesgo para la infección por *G. lamblia*, según los hallazgos reportados por *Cociancic P y cols* (2019) **(5)** y *Puebla LJ y cols* (2017) el uso de agua no segura fue una de las variables determinantes para la presencia del parásito en la población de estudio (OR=2.1 y OR=2.9) **(6)**, estos datos son semejantes a los nuestros salvo que no fue estadísticamente significativo (OR= 2.1, P=0.37).

El tipo de suelo de la vivienda juega un papel importante en la presencia o ausencia de *G. lamblia*, ya que en piso de tierra los quistes del parásito son resistentes al medio ambiente y es más fácil el contagio. En nuestro estudio dicha variable no alcanzo un valor estadístico significativo (OR=3.0, P=0.35) contrario a lo reportado por *Cociancic P y cols* (2019) y *Solano-Barquero y cols* (2018) que determinaron que el tener piso de tierra era un factor de riesgo para presentar la infección (OR=3.5) **(5)** y (OR=1.9) **(7),** respectivamente.

El análisis multivariado realizado en el presente estudio dio como resultado una asociación estadísticamente significativa del NBI con la infección por *G. lamblia*. Dado que en este índice se incluyeron distintos indicadores de pobreza (hacinamiento, escolaridad del tutor, ocupación de la madre o tutor, eliminación de excretas, tipo de consumo de agua y condiciones de vivienda) *(ver anexo 6)*, algunos de ellos mostraron mayor tendencia y/o fueron más contribuyentes a la significancia de NBI, tales como eliminación de excretas en letrinas (OR= 3.9; P=0.11) y baja escolaridad del tutor (OR=2.0; P=0.16).

Este estudio tiene varias limitaciones. Primero, el tamaño de nuestra población de estudio (69 niños) podría limitar el poder estadístico de ciertos análisis. Segundo, aunque nuestro criterio de selección para los controles eran niños sin diarrea, se

encontraron 2 infecciones asintomáticas por *G. lamblia* en este grupo (4.34%), lo que podría indicar ciertos factores pueden proteger de la enfermedad, pero no de la infección. Tercero, los niños en este análisis fueron menores de 3 años, y se ha demostrado que la mayor frecuencia de casos de infección por *G. lamblia* se encuentra en la edad preescolar. Y por último, no evaluar la presencia de otros patógenos (co-infecciones) podría ser un sesgo para la verdadera atribución de los casos por *G. lamblia.*

10. CONCLUSIONES

- *G. lamblia* en este estudio afectó principalmente al sexo masculino (56.5%) y a las edades entre 13-18 meses (30.4%).

- Los síntomas asociados a la presencia de *G. lamblia* en la mayoría de los casos fueron: diarrea de tipo aguda (82.6%) con deposiciones de 5-6 al día (39.13%), vómito (21.73%), fiebre (21.74%) y heces con sangre (4.35%). Algunos niños recibieron atención médica, pero sin ingreso hospitalario ni administración de líquido intravenoso.

- El tener un índice bajo de necesidades básicas insatisfechas es un factor de riesgo asociado a la infección por *G. lamblia* (OR=4.4, P=0.04). Los indicadores como el tipo de eliminación de excreta en letrinas y baja escolaridad del tutor, tuvieron un impacto en la significancia de este factor de riesgo.

11. RECOMENDACIONES

- Al ministerio de Salud que mantenga la vigilancia epidemiológica en el lugar de estudio.
- A los padres o tutores de los menores brindarles consejería sobre los factores de riesgos y las manifestaciones clínicas que ocasiona la parasitosis en los niños, ampliando su conocimiento sobre la enfermedad.
- A futuros estudios incrementar el número de muestras y el rango de edad de los niños participantes.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chabra A, Rahimi-Esboei B, Habibi E, Monadi T, Azadbakht M, Elmi T, Valian HK, Akhtari J, Fakhar M, Naghshvar F. Effects of some natural products from fungal and herbal sources on Giardia lamblia in vivo. Parasitology. 2019 Aug;146(9):1188-1198. doi: 10.1017/S0031182019000325. Epub 2019 Apr 22. PMID: 31006397. PMID: 21233509; PMCID: PMC3021202
2. Náquira C. Diagnóstico y Tratamiento de las Enteroparasitosis. Rev Médica. Perú.2000; 3 (18-19): 18-26.
3. Dougherty M, Bartelt LA. Giardia and growth impairment in children in high-prevalence settings: consequence or co-incidence? Curr Opin Infect Dis. 2022 Oct 1;35(5):417-423. doi: 10.1097/QCO.0000000000000877. Epub 2022 Aug 12. PMID: 35980005.
4. Zajaczkowski P, Mazumdar S, Conaty S, Ellis JT, Fletcher-Lartey SM. Epidemiology and associated risk factors of giardiasis in a peri-urban setting in New South Wales Australia. Epidemiol Infect. 2018 Sep 28; 147.
5. Cociancic P, Torrusio SE, Zonta ML, Navone GT. Risk factors for intestinal parasitoses among children and youth of Buenos Aires, Argentina. One Health. 2019 Nov 28; 9:100116.
6. Puebla LJ, Núñez FA, García AB, Rivero LR, Millán IA, Prado RC. Prevalence of *Giardiaduodenalis* among children from a central region of Cuba: molecular characterization and associated risk factors. J Parasit Dis. 2017 Jun; 41(2):405-413.
7. Solano-Barquero M, Montero-Salguero A, León-Alán D, Santamaría-Ulloa C, Mora AM, Reyes-Lizano L. Prevalencia de parasitosis en niños de 1 a 7 años en condición de vulnerabilidad en la Región Centro Sur de la Costa Rica. Acta Med Costarric. 2018; 60 (2):19–29.
8. Muñoz-Antoli C, Gozalbo M, Pavón A, Pérez P, Toledo R, Esteban JG. Enteroparasites in Preschool Children on the Pacific Region of Nicaragua. Am J Trop Med Hyg. 2018 Feb;98(2):570-575

9. Muñoz-Antoli C, Pérez P, Pavón A, Toledo R, Esteban JG. High intestinal parasite infection detected in children from Región Autónoma Atlántico Norte (R.A.A.N.) of Nicaragua. Sci Rep. 2022 Apr 7; 12 (1):5872.
10. Becker-Dreps S, Bucardo F, Vilchez S, Zambrana LE, Liu L, Weber DJ, Peña R, Barclay L, Vinjé J, Hudgens MG, Nordgren J, Svensson L, Morgan DR, Espinoza F, Paniagua M. Etiology of childhood diarrhea after rotavirus vaccine introduction: a prospective, population-based study in Nicaragua. Pediatr Infect Dis J. 2014 Nov;33(11):1156-63. doi: 10.1097/INF.0000000000000427. PMID: 24879131; PMCID: PMC4216626.
11. Alcaráz-Soriano, M. (2002, October). *Giardia Y GIARDIOSIS*, Pag: 1–7. https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/parasitologia/Giardia.pdf
12. Adam RD. Biology of Giardia lamblia. Clin Microbiol Rev. 2001 Jul;14(3):447-75.
13. Cacciò SM, Lalle M, Svärd SG. Host specificity in the Giardia duodenalis species complex. Infect Genet Evol. 2018 Dec;66:335-345.
14. Werner L, Parasitologia humana, respecto a la primera edición en español por, McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, Mexico, 2013. Cap;18.
15. Tay, J., Velasco, O., Lara, R. y Gutiérrez, M. (1996). Giardiasis. Parasitología Médica. 6ta. ed., México: Méndez Cervantes, pp. 73-79.
16. Smith HV, Cacciò SM, Tait A, McLauchlin J, Thompson RC. Tools for investigating the environmental transmission of Cryptosporidium and Giardia infections in humans. Trends Parasitol. 2006 Apr; 22(4):160-7.
17. Minetti C, Chalmers RM, Beeching NJ, Probert C, Lamden K. Giardiasis. BMJ. 2016 Oct 27;355:i5369.
18. Botero D, Restrepo M. Parasitosis humanas. 3 ed.; Corporación para investigaciones biológicas. Medellín, Colombia. 1998. (63-64)
19. Cruz V, Morán C, Álvarez R. Parasitosis intestinal en niños de una comunidad rural y factores de riesgo implicados en ellas. Rev. Mex Pediatr 2004; 65: 9-11.
20. Youssef M, Shurman A, Bougnoux M, Rawashdesh M, Bretagne S, Strockbine N. Bacterial, viral and parasitic enteric pathogens associated with acute diarrhea in

hospitalized children from northern Jordan. FEMS Immunol Med Microbiol 2000; 28:257–63.

21. Allain T, Buret AG. Pathogenesis and post-infectious complications in giardiasis. Adv Parasitol. 2020;107:173-199.
22. Rivera, M., De La Parte, M. A., Hurtado, P., Magaldi, L. y Collazo, M. (2002). Giardiasis Intestinal. Mini-Revisión. Investigación Clínica. Abril, Venezuela: Universidad del Zulia, vol. 43, no. 2, p. 119-128. ISSN 0535-5133.
23. Torres, F. L. y Villalobos, G. (1974). Cuadro clínico producido por *Giardia lamblia*. Revista de Gastroenterología de México. México: AMG, no. 39, p. 187.
24. Soares R, Tasca T. Giardiasis: an update review on sensitivity and specificity of methods for laboratorial diagnosis. J Microbiol Methods. 2016 Oct; 129:98-102.
25. Koehler A, Jex A, Haydon S. Giardia/giardiasis A perspective on diagnostic and analytical tolos. 2014 Mar-Apr;32(2):280-9
26. Ortiz Alvarado, Ninoska de los Ángeles; Vela Potoy, José Adrián y Romero Gutiérrez, Jennifer Dominga (2015) Prevalencia de parásitos intestinales en niños de la comunidad de Acedades del Departamento de Boaco en el periodo Julio-Noviembre del 2014. http://repositorio.unan.edu.ni/id/eprint/988
27. Saura-Carretero Z, Villanueva-Alarcón M, Pérez-Olaso O, Aleixandre-Górriz I, Real-Fernández A, Sánchez-Thevenet P, Gregori-Roig P. Giardiasis in a paediatric population of the province of castellon. Clinical details and impact. An Pediatr (Engl Ed). 2021 May; 94(5):278-284.
28. Júlio C, Vilares A, Oleastro M, Ferreira I, Gomes S, Monteiro L, Nunes B, Tenreiro R, Angelo H. Prevalence and risk factors for Giardia duodenalis infection among children: a case study in Portugal. Parasit Vectors. 2012 Jan 27;5:22. doi: 10.1186/1756-3305-5-22. PMID: 22284337; PMCID: PMC3275531.
29. Teixeira JC, Heller L, Barreto ML. Giardia duodenalis infection: risk factors for children living in sub-standard settlements in Brazil. Cad Saude Publica. 2007 Jun;23(6):1489-93. doi: 10.1590/s0102-311x2007000600024. PMID: 17546340.

30. Verweij JJ, Blangé RA, Templeton K, Schinkel J, Brienen EA, van Rooyen MA, van Lieshout L, Polderman AM. Simultaneous detection of Entamoeba histolytica, Giardia lamblia, and Cryptosporidium parvum in fecal samples by using multiplex real-time PCR. J Clin Microbiol. 2004 Mar;42(3):1220-3

13. ANEXOS

Anexo 1. FORMULARIO PARA NIÑOS CON DIARREA (CASOS)

INTRODUZCA LA FECHA DE HOY: (dd/mm/aaaa) __ __ / __ __ / __ __ __ __

Hora: _ _ : _ _ *CÓDIGO DEL NIÑO/A:* _____

1. ¿ El niño(a) ha tenido diarrea y/o vómito en los últimos 7 días? *(MARQUE TODOS QUE SE APLICAN)*
   ◯Diarrea
   ◯Vómito

2. ¿Cuál es el estado de este episodio de diarrea y/o vómito?
   ◯Nuevo episodio (Se define por una interrupción en los síntomas por 3 días o más.)
   ◯Seguimiento de un episodio ya reportado (Se define por síntomas continuos desde el comienzo del episodio, con interrupciones de 2 días o menos).

3. ¿Cuál es la fecha en que comenzó la diarrea? *MOSTRAR A LOS CUIDADORES UN CALENDARIO Y MARQUE LA FECHA*
   ◯Nuevo episodio: __ __ / __ __ / __ __ __ __ (dd / mm / aaaa)
   ◯Seguimiento de un episodio ya reportado

4. ¿Cuál fue el número máximo de deposiciones por período de 24 horas que experimentó el niño (a) desde que comenzaron los síntomas?
   _____ (número, rango 1-20)

5. ¿Cuál es la fecha en que terminó la diarrea? *MOSTRAR A LOS CUIDADORES UN CALENDARIO Y MARQUE LA FECHA*
   __ __ / __ __ / __ __ __ __ (dd / mm / aaaa)
   ◯La diarrea sigue en curso

6. ¿En qué fecha comenzó el vómito? *MUESTRELE AL CUIDADOR UN CALENDARIO Y MARQUE LA FECHA*
   ◯Nuevo episodio: __ __ / __ __ / __ __ __ __ (dd / mm / aaaa)

◯Seguimiento de un episodio ya reportado

7. ¿En qué fecha terminó el vómito*? MUESTRELE AL CUIDADOR UN CALENDARIO Y MARQUE LA FECHA*

__ __ / __ __ /__ __ __ __ (dd / mm / aaaa)

◯Vómitos aún en curso

SÍNTOMAS Y TRATAMIENTO DE DIARREA Y/O VÓMITO

8. ¿Ha tenido su niño(a) fiebre desde que comenzaron los síntomas de diarrea y/o vómito? *[FIEBRE DEFINIDO POR APRECIACIÓN DE LA MADRE.]*

◯SÍ
◯NO

9. ¿Ha tenido su niño/a sangre visible en las heces desde que comenzaron los síntomas?

◯SÍ
◯NO

10. ¿Recibió el niño (a) líquido intravenoso (líquido a través de la vena) desde que comenzaron los síntomas?

◯SÍ
◯NO

11. ¿Recibió el niño (a) zinc desde que comenzaron los síntomas?

◯SÍ
◯NO

12. ¿Recibió el niño cualquier medicamento desde la última visita (no incluyendo suero oral)?

◯SÍ
◯NO

13. ¿Por qué razón toma el niño (a) el/los medicamento(s)?

◯Para la diarrea/vomito
◯Para otra infección

14. ¿Se atendió al niño (a) en el centro/puesto de salud u otra clínica desde que comenzaron los síntomas?

◯SÍ
◯NO

15. ¿Se atendió al niño (a) en la sala de emergencias (pero no hospitalizado) desde que comenzaron los síntomas?

◯SÍ
◯NO

16. ¿El niño (a) fue hospitalizado desde que comenzaron los síntomas?
◯SÍ
◯NO

FACTORES DE RIESGO PARA DIARREA Y/O VÓMITO

17. En los últimos 7 días, ¿Comió su niño alguna fruta o verdura sin cocinar?
◯SÍ
◯NO

18. En los últimos 7 días, ¿su niño (a) comió algún alimento fuera de su casa?
◯SÍ
◯NO

19. ¿Qué tipo de agua utilizan para el consumo en la casa?
◯Potable
◯No potable (Pozo)

20. En los últimos 7 días, ¿asistió su niño (a) a la guardería (un lugar que cuida a 4 o más niños)?
◯SÍ
◯NO

ANEXO 2. FORMULARIO PARA NIÑOS CONTROLES

INTRODUZCA LA FECHA DE HOY: (dd/mm/aaaa) __ __ / __ __ / __ __ __ __

Hora: _ _ : _ _

INTRODUZCA EL NOMBRE DEL ENTREVISTADOR: _____

INTRODUZCA EL NÚMERO DE VISITA PARA ESTE NIÑO(A): _____

1. ¿Amamantó a su niño(a) ayer?
◯SI
◯NO

2. ¿Normalmente, cuántas veces el niño (a) defeca en un período de 24 horas?
◯Menos de 1
◯1
◯2
◯3
◯4
◯5
◯6
◯Más de 6

3. ¿Viven animales en la casa?
◯Sí
◯No

4. ¿Se lava típicamente las manos antes de preparar alimentos y/o después de ir al baño?
◯SI
◯No

5. ¿Cuál es su tipo de eliminación de excretas?
◯Letrinas
◯Inodoro
◯ Otro

6. ¿Cuántos espacios tiene su casa, incluyendo habitaciones, la sala, y la cocina, y excluyendo baños o pasillos? Número total de espacios: _____
7. ¿Cuantas personas habitan en la vivienda? ___

8. En la semana pasada, ¿Comió su niño alguna fruta o verdura fresca o sin cocinar?
◯SÍ
◯NO

9. En los últimos 7 días, ¿asistió su niño (a) a la guardería (un lugar que cuida a 4 o más niños)?
◯Sí
◯NO

10. ¿Qué tipo de agua utilizan para el consumo en la casa?
◯Potable

◯No potable (Pozo, otros)

11. ¿Cuál es la escolaridad del padre o tutor?

◯ Analfabeto
◯ Primaria
◯ Secundaria
◯ Universidad
◯ Profesional
◯ Ninguna de las anteriores

12. ¿Cuál es la ocupación del padre o tutor?

◯ Pensionado
◯ Obrero
◯ Estudiante
◯ Ama de casa
◯ Trabajo profesional
◯ Artesano
◯ Conductor
◯ Oficina/Maestro
◯ Trabajador de salud
◯ Trabajador industrial
◯ Otro

Anexo 3. Protocolo de extracción de ADN para muestras de heces.

Método de extracción según protocolo QIAamp DNA Stool Mini Kit (Cat #51604)

Materiales:

- QIAamp DNA Stool Mini Kit:
  - ✓ Buffer InhibitEX
  - ✓ Proteinasa K
  - ✓ Buffer AL
  - ✓ Buffer de lavado AW1
  - ✓ Buffer de lavado AW2
  - ✓ Buffer ATE
  - ✓ Columnas minispin QIAamp
  - ✓ Tubos colectores (2mL)
- Etanol 96-100%
- 212-300 µm glass breads
- Pipetas de 5-50 µL
- Pipetas de 1000 µL
- Puntas de 30 µL.
- Puntas de 200 µL.
- Puntas de 1000 µL.
- Microcentrífuga minispin.
- Baño maría 70ºC
- Vortex BEAD MILL 4 ThermoFisher Scientific.
- Coolrack
- Tubos eppendorf 1.5 mL
- Crioviales 1.8mL.
- Gradillas de tubos eppendorf 1.5 mL y/o crioviales de 1.8 mL.

Procedimiento de extracción:

1. Limpiar el área de trabajo y preparar las muestras a extraer.
2. Todas las muestras serán colocadas en coolrack antes de utilizarlas, con el fin de mantener las muestras temperaturas óptimas de viabilidad.
3. Agregar 0.03 gramos de 212-300 µm glass breads en crioviales de 1.8mL.
4. Pesar 180-220 mg de la muestra de heces y añadir en crioviales de 1.8mL. (colocar en gradillas de crioviales de 1.8mL)

Nota A): En caso en que las heces se encuentren re-suspendidas en PBS 1X, se extraerán 200 µL de solución y añadir a crioviales de 1.8 mL (Que contienen el buffer InhibitEX y el glass beads).

Nota B): Cuando se utilicen muestras congeladas, tenga cuidado de que las muestras no se descongelen hasta que se agregue el buffer InhibitEX en el paso 4 para lisar la muestra; de lo contrario el ADN en la muestra puede degradarse. Después de la adición del buffer InhibitEX, todos los pasos siguientes se pueden realizar a temperatura ambiente.

5. Añadir 1.0 ml de buffer InhibitEX a cada criovial con la muestra.
6. Colocar los crioviales con la suspención en el vortex Bead Mill por 1 minuto.
7. Calentar la suspensión a 70ºC por 5 minutos.
8. Dar vortex por Bead Mill por 15 segundos y centrifugar la muestra a 14,000 rpm por 1 minutos. Pipetear 1.2 ml del sobrenadante dentro de un nuevo tubo de 1.5 mL. (para separar las glass beads)
9. Agregar 15 µL de proteinasa K en un nuevo criovial de 1.8mL y agregar 200 µL del sobrenadante obtenido en el paso 7.
10. Agregar 200 µL de Buffer AL y dar vortex por 15 segundos.

NOTA: No agregar proteinasa K directamente al buffer, se debe mezclar primeramente con el lisado de la extracción.

11. Incubar a 70ºC por 10 minutos. Centrifugar brevemente para eliminar gotas en el interior del tubo. (opcional)
12. Agregar 200 µL de etanol (96-100%) al lisado y mezclar por vortex. Centrifugar brevemente para eliminar gotas en el interior del tubo. (opcional)
13. Etiquete las tapas de las columnas de QIAamp y colocarlas en un tubo colector de 2 mL. Colocar cuidadosamente 600 µL de lisado obtenido en el paso 11 a la columna tratando de no dejar porciones del lisado en los bordes. Cerrar la columna y centrifugar a 14,000 rpm por 1 minuto. Colocar la columna en un nuevo tubo colector de 2 mL y descartar el tubo que contiene el filtrado.
14. Abrir cuidadosamente la columna y agregar 500 µL de Buffer AW1. Cierre la columna y centrifugar el contenido a 14,000 rpm por 1 minuto. Colocar la columna en un nuevo tubo colector de 2 ml y descartar el tubo que contiene el filtrado.
15. Abrir cuidadosamente la columna y agregar 500 µL de Buffer AW2. Cierre la columna y centrifugar el contenido a 14,000 rpm por 3 minutos. Colocar la columna en un nuevo tubo colector de 2 mL y descartar el tubo que contiene el filtrado.
16. Centrifugar a 14,000 rpm por 3 min. Este paso ayudará eliminar restos de Buffer AW2.
17. Transferir la columna de QIAamp a un eppendorf de 1.5 mL previamente etiquetado. Abrir cuidadosamente la columna y añadir 200 µL de Buffer ATE directamente en la membrana. Incubar 1 minuto a temperatura ambiente y centrifugar a máxima velocidad por 1 min para eludir el ADN.

Anexo 4. <u>Protocolo del PCR en tiempo real para *G. lamblia* basado en Taqman.</u>

El diagnóstico molecular de *G. lamblia* se realizo mediante la amplificación genética del ARN ribosómico de la sub-unidad pequeña conocida (número de acceso de GenBank M54878), de tal manera que un fragmento de 62 pb dentro del gen de ARN ribosómico debe amplificarse y detectarse específicamente para *G. lamblia*. [(31)]

Para el PCR en tiempo real se utilizó 3 µl de ADN, 12 µl de Bio-Rad iQ Multiplex Powermix., 1 µl de la mezcla de los primers 1µM *(Ver tabla 5)* y 9 µl de agua libre de nucleasas para un volumen final de 25 µl para cada reacción. Luego se utilizó el equipo ROCHE LIGHT CYCLER con las siguientes condiciones: 3 minutos a 95ºC para la desnaturalización inicial, luego 40 ciclos de 95ºC por 10 segundos, y a 60ºC por 1 minuto, momento donde se realizó la lectura de la fluorescencia.

Tabla 5. Primers para la detección de *G. lamblia.*

Primers	***Secuencia***	***Referencia***
Forward	5´-GACGGCTCAGGACAACGGTT-3´	Verweij JJ, y cols. J Clin Microbiol. 2004 Mar;42(3):1220-3.
Reverse	5´-TTGCCAGCGGTGTCCG-3´	
Probe	5´-CCCGCGGCGGTCCCTGCTAG-3´	

Anexo 5. **Acta de aprobación del comité de ética para investigaciones biomédicas (CEIB)**

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua
Facultad de Ciencias Médicas
UNAN - León

Comité de Ética para Investigaciones Biomédicas (CEIB)
"Dr. Uriel Guevara Guerrero"
FWA00004523 / IRB00003342

Miembros Fundadores
Dr. Uriel Guevara Guerrero
Médico Patólogo
Dr. Jaime Granera Soto
Médico y Sacerdote
Dra. Nubia Pacheco Solis
Médico y Dermatóloga

Comité Ejecutivo
Dra. Nubia Pacheco Solis
Presidenta
Dr. Efrén Castellón C.
Vice - Presidente
Dr. Orlando Morales N.
Secretario

Miembros alternos
Dr. Jorge Alemán Pineda
MSc. Inella Romero S.
Dr. William Ugarte

León, 18 de enero de 2017

ACTA No. 2

Dra. Sylvia Becker-Dreps
Dr. Filemón Bucardo
Investigadores
Sus Manos

Estimados Doctores:

El CEIB les comunica que recibió su trabajo de Investigación para que sea analizado por este Comité, titulado: **"Historia natural, inmunidad y patrones de transmisión de sapovirus en una cohorte de niños nicaragüenses, seguidos desde el nacimiento"**. Después de haber efectuado dicha revisión se determina lo siguiente: **Se aprueba la conducción de dicha Investigación, basados en que cumple con los principios delineados en la Declaración de Helsinki y reúne los principios éticos básicos.**

Como Comité de Ética, valoramos muy positivamente la importancia de este trabajo y esperamos que sus resultados sean positivos. Copia de esta carta debe estar presente en el Protocolo e informe final.

Sin otro particular, nos es grato suscribirnos.

Atentamente,

DRA. NUBIA A. PACHECO SOLIS
Presidenta del CEIB
Facultad de CC. MM.

DR. ORLANDO MORALES N.
Secretario del CEIB
Facultad de CC. MM.

DRA. MERCEDES CACERES, PhD
Vice-Decano
Facultad de Ciencias Médicas

Cc: Archivo
NPS/rhl

A la libertad por la Universidad

Fundado en la Facultad de Ciencias Médicas UNAN - León Nicaragua Abril de 1995
Telf: 2311-4675

Expiration data 13/03/2017
IRB00003342

Anexo 6. Indicadores de Necesidades Básicas Insatisfechas.

Construcción de Indicadores de pobreza

El Índice de pobreza esta compuesto por el número de necesidades básicas insatisfechas (NBI).
Esta metodología se basa en la medición de cuatro indicadores que permiten identificar las de necesidades básicas insatisfechas en las viviendas.

1. **No Pobre** (Cuando la suma de los cuatro indicadores esta entre 0-1; es decir tiene no mas de una NBI).
2. **Pobre** (cuando la suma de los cuatro indicadores esta entre 2-3; tiene dos NBI).
3. **Extremadamente Pobre** (cuando la suma de los cuatro indicadores es 4; tiene cuatro NBI).

Primer Indicador:

Servicios Sanitarios.

Variables y Valores		Condiciones	Significado
Agua	1 = Tubería Adentro 2 = Tubería Puesto Comunal 3 = Pozo Propio 4 = Pozo Comunal 5 = Río / Quebrada 6 =Agua Comprada en barril 7 = Otros (ej. Regalada)	**Servicio Sanitario Urbano (U):** va a ser =1 si agua>2 ó excreta>1 de lo contrario será igual a 0.	=0 Necesidad Básica Satisfecha. =1 Necesidad Básica Insatisfecha
Excreta	1 = Inodoro 2 = Letrina 3 =No tiene	**Servicio Sanitario Rural(R):** va a ser =1 si agua>3 ó excreta>2 de lo contrario será = 0.	

Segundo Indicador:

Condiciones de la Vivienda.

Variables y Valores		Condiciones	Significado
Pared	1 = Ladrillo de Cerámica 2 = Adobe/ Taquezal 3 = Madera 4 = Palma 5 = Cartón, Plástico, Metal, Ripios	**Condición de la vivienda Urbano/Rural:** va a ser =1 si pared>2 ó piso =5 de lo contrario será = 0.	=0 Necesidad Básica Satisfecha. =1 Necesidad Básica Insatisfecha

	3. Ama de Casa 4. Empleada Doméstica 5. Trabajador(a) Industrial 6. Trabajador(a) Agrícola 7. Estudiante 8. Ejercicio Profesional 9. Artesano 10. Empresario 11. Comerciante 12. Pensionado 13. Discapacitado 14. Oficina / Maestro(a) / Trabajador de Salud 15. No Escuela 16. No Trabajo 18. Otros 19.Conductor 99. Valor Nulo 1993		

Cuarto Indicador:

Alta Dependencia Económica

Variables y Valores		Condiciones	Significado
Ocupación	1. Desempleado 2. Vendedor ambulante 3. Ama de Casa 4. Empleada Doméstica 5. Trabajador(a) Industrial 6. Trabajador(a) Agrícola 7. Estudiante 8. Ejercicio Profesional 9. Artesano 10. Empresario 11. Comerciante 12. Pensionado 13. Discapacitado 14. Oficina / Maestro(a) / Trabajador de Salud 15. No Escuela 16. No Trabajo 18.Otros 19.Conductor 99. Valor Nulo 1993	**Alta Dependencia Urbano/Rural:** Alta dependencia será =1 Si el resultado del total de dependientes (los que están fuera del rango de 15-65 años) más los desempleados, entre el total de empleados es >=2 de lo contrario será =0.	=0 Necesidad Básica Satisfecha. =1 Necesidad Básica Insatisfecha