

**MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL
"PEDRO KOURI"**

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN 1^{ER} GRADO EN
MICROBIOLOGÍA



**CARACTERIZACIÓN DE LAS INFECCIONES POR PROTOZOOS
INTESTINALES ASOCIADAS A ENFERMEDAD DIARREICA EN NIÑOS DE 0-5
AÑOS, HOSPITAL PEDIÁTRICO DOCENTE "WILLIAM SOLER", 2022**

Autora: Dra. Madelaine Miranda Machado

Tutores: Lic. Luis Enrique Jerez Puebla, DrC
Dra. Lucia Ayllón Valdés, MSc.

Asesores: Dr. Fidel Ángel Núñez Fernández, DrC.
Dra. Isabel Martínez Ayllón, MSc.

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK)
Hospital Pediátrico Docente "William Soler"
Escuela Latinoamericana de Medicina

La Habana, 2023

Dedicatoria

A mis padres:

Cuando se trata de agradecer el amor, los valores, el impulso, la motivación, el cuidado, la protección, los desvelos, y el sacrificio que han tenido para mí, las palabras se evaporan, el nudo que se me atraviesa en la garganta me impide hablar, solo siento una gran emoción y un profundo agradecimiento de tenerlos a ustedes como padres. No hay manera, ni una sola palabra que pueda expresar el infinito agradecimiento que tengo hacía ustedes por todo lo hermoso que me han dado.

En estos momentos los recuerdos tocan mi corazón, recuerdos hermosos de mi niñez, y ustedes siempre ahí, junto a mí, impulsándome para lograr cualquier cosa que me propusiera, no hay día que no agradezca a Dios la oportunidad de tener unos padres como ustedes, que me han ayudado tanto a realizar mis sueños, y lograr mis más grandes metas. La vida sigue, y aún es largo el camino, me faltan muchas más metas por cumplir, sueños que realizar, y que nos les quedé duda que lo haré que todo lo que me han enseñado en cada segundo de mi vida lo aplicaré para ser mejor.

A mis hermanos:

Si algo tengo claro en esta vida es la suerte de no haber crecido sola de tener con quien compartir mi infancia, juegos, sueños e ilusiones. Gracias tata Mauri y mi bella Ponyo, por ser mis tesoros.

A mi esposo:

Recuerdo cada noche antes de dormir cuando oraba a Dios y le pedía por el compañero de mi vida..... Hoy le doy gracias porque me dio más de lo que esperaba. A ti y a tu bella familia.

Agradecimiento:

Existen tantas personas a las que agradecer que si las mencionara con nombre y apellido bien sería un capítulo entero en este documento. Pues sí, cada persona que me ayudo en estos tres años de mi vida guarda un lugar en mi mente y en mi corazón, sin su ayuda no fuese sido posible estar hoy a pocos días de ser especialista en Microbiología y Parasitología Médica.

Comienzo con un especial agradecimiento a mis tutores DrC. Luis Enrique Jerez Puebla y la Dra. Lucía Ayllón Valdés por compartir sus conocimientos y por las horas de trabajo dedicadas en la realización de este trabajo, demostrando profesionalidad, responsabilidad, muestra de empeño y compromiso.

A mis asesores; la Dra. Isabel Martínez Ayllón gracias por el apoyo incondicional y el Dr. Fidel Ángel Núñez Fernández gracias por su ayuda, por acogerme en su casa para poder trabajar mejor en este documento, gracias por su tiempo, por su dedicación, por permitirme compartir con su bella familia.

Mi gratitud al colectivo de trabajo del Laboratorio Nacional de Parasitismo Intestinal del IPK, y al colectivo de trabajo del Laboratorio de Microbiología del Hospital Pediátrico Docente “William Soler” por aportar su granito de arena.

Al colectivo de Profesores del Departamento de Docencia del IPK quienes han sido los principales alfareros en este camino. Gracias por su categoría humana y científica y empeño de hacer las cosas mejor cada día.

A la muchachita del aula 8 y las muchachitas de la Biblioteca como cariñosamente le decimos, gracias por todo su tiempo y apoyo, su preocupación por cada prueba o seminario que teníamos.

A mis compañeras de residencia gracias por ser partícipes de esta locura, gracias por su amor, cariño y por su bella amistad.

A todas las personas que me sirvieron de Uber, sin interés monetario alguno, gracias por su respeto y admiración a los médicos cubanos.

A mi querido amigo Jorge Pérez gracias por ser esa primera persona que me extendió la mano cuando llegué totalmente sola a un hospital desconocido, en una ciudad desconocida. Sus palabras nunca se me olvidan, como estoy segura que a usted tampoco se le olvida mi cara de miedo.

Por último, pero no menos importante a mi familia y a mis amigos (la familia que uno escoge) les agradezco por no dejarme caer, por estar en las verdes y en las maduras.

Sepan que gracias a ustedes puedo decir hoy orgullosamente que soy especialista.

ABREVIATURAS

ADN: Acido desoxirribonucleico

ARNr: Ácido ribonucleico ribosomal

CEI-IPK: Comité de Ética del Instituto "Pedro Kourí"

EDA: Enfermedades diarreicas agudas

ELISA: Ensayo Inmunoenzimático sobre fase sólida

ENPI: Encuesta Nacional de Parasitismo Intestinal

HPD-WS: Hospital Pediátrico Docente "William Soler"

H₂SO₄: Ácido sulfúrico

IPI: Infecciones Parasitarias Intestinales

LNR-PI-IPK: Laboratorio Nacional de Referencia de Parasitismo Intestinal del Instituto "Pedro Kourí"

LM-HPD-WS: Laboratorio de Microbiología del Hospital Pediátrico Docente "William Soler"

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa (del inglés, Polymerase Chain Reaction)

qPCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real

Resumen

Resumen:

La enfermedad diarreica es aún una causa importante de mortalidad en países en vías de desarrollo, en los que afecta principalmente a los niños menores de cinco años de edad. En Cuba, aunque la mortalidad por esta causa se ha reducido, se hace necesario conocer la contribución de los parásitos intestinales en el desarrollo de diarrea, así como determinar algunas características clínico epidemiológicas en niños ingresados. Se realizó un estudio sobre parasitismo intestinal en 113 niños ingresados en el Hospital Pediátrico Docente "William Soler" de abril a noviembre de 2022. Para esta finalidad se tomó una muestra de heces por cada niño las que se procesaron por tres métodos parasitológicos (examen directo, técnica de Willis y técnica de Zielh-Neelsen modificada). La prevalencia de infección por parásitos intestinales fue de 49,6%. Las especies más representativas fueron *Entamoeba histolytica/dispar* (23,0%), *Blastocystis* spp. (17,7%) y *Giardia lamblia* (8,9%). No se evidenciaron diferencias significativas en cuanto a la infección por parásitos intestinales y las características clínicas y epidemiológicas evaluadas, con la excepción de la diarrea persistente (mayor de 14 días) causada por *G. lamblia*. El consumo de agua no hervida y el residir en zona rural constituyeron factores de riesgo para el desarrollo de infecciones parasitarias intestinales. El empleo de la PCR en tiempo real para el diagnóstico de la giardiosis aumentó considerablemente la sensibilidad diagnóstica en comparación con las técnicas convencionales. Estos resultados ilustran el papel que pueden alcanzar las parasitosis intestinales dentro del amplio espectro etiológico de las diarreas, también muestra algunas características epidemiológicas de las infecciones parasitarias en un grupo de niños cubanos ingresados con diarreas.

ÍNDICE

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1.2.1. Objetivo general	3
1.2.2. Objetivos específicos:	3
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Epidemiología de los parásitos intestinales	4
2.2. Situación en Cuba de las parasitosis intestinales	5
2.3. Principales parásitos intestinales que infectan a niños de 0-5 años	6
2.3.1 <i>Giardia lamblia</i>	6
2.3.2 <i>Cryptosporidium spp.</i>	7
2.3.3 <i>Entamoeba histolytica</i>	9
2.3.4 <i>Blastocystis spp.</i>	10
2.3.5 <i>Ascaris lumbricoides</i>	11
2.3.6 <i>Trichuris trichiura</i>	12
2.3.7 Ancilostomideos	13
2.4 Transmisión	14
2.5 Diagnóstico	15
2.6 Efectos nutricionales	17
2.7 Tratamiento medicamentoso para parasitismo intestinal	18
2.8 Prevención y control	19
III MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1. Diseño del estudio	23
3.2. Criterio de inclusión y exclusión	23
3.2.1. Criterio de inclusión	23
3.2.2 Criterio de exclusión	23

3.3 Toma y traslado de las muestras	24
3.3.1 Técnicas parasitológicas para el diagnóstico e identificación de parásitos intestinales	24
3.3.2 Diagnóstico molecular para <i>Giardia lamblia</i>:	26
3.4 Recolección de la información	27
4.5 Operacionalización de las variables	28
3.5 Análisis estadístico	33
3.6 Aspectos éticos	33
IV. Resultados	35
Tabla 1. Frecuencia por parásitos intestinales en niños ingresados con diarreas en el Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, entre abril y diciembre de 2022.	35
Tabla 2. Prevalencia de protozoos intestinales patógenos según la edad en niños ingresados con diarreas en el Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, entre abril a diciembre de 2022.	36
Al analizar la relación entre las variables clínicas encuestadas y la prevalencia por especies de protozoos intestinales patógenos encontradas en los niños se obtuvo que los síntomas más frecuentes acompañando el cuadro diarreico, fueron el dolor abdominal (8,6%), y los vómitos (5,7%). Estos fueron seguidos en menor frecuencia por la fiebre (2,9%) y la pérdida de apetito (2,9%). Es de destacar que al comparar los infectados con protozoos con los negativos a estas infecciones no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos para todos estos síntomas ($P>0,05$). El resto de los síntomas y signos analizados, no se encontraron en esta población pediátrica.	36
Tabla 3. Relación entre la prevalencia por parásitos intestinales y algunas características clínicas en niños ingresados con diarreas en el Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, entre abril y diciembre de 2022.	37
Tabla 4. Comparación de la duración y la frecuencia de las diarreas en los infectados por diferentes especies de protozoos intestinales.	38

Tabla 5. R Relación entre hábitos higiénicos sanitarios y la prevalencia por especies de protozoos intestinales en niños ingresados con diarreas en el Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, entre abril y diciembre de 2022.	39
Tabla 6. Riesgo de la ruralidad y prevalencia por especies de protozoos intestinales en niños ingresados con diarreas en el Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, entre abril y diciembre de 2022.	40
Tabla 7. Evaluación del desempeño del test parasitológico y molecular, e índice de Concordancia (kappa), para el diagnóstico de <i>Giardia</i> en niños ingresados con diarreas en el Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, abril y diciembre de 2022	41
V. Discusión	42
VI. Conclusiones	51
VII. Recomendaciones:	52
VIII. Referencias bibliográficas	53
IX. Anexos	64

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción

Las enfermedades diarreicas agudas (EDA) causadas por infecciones parasitarias se notifican en todos los grupos de edades. Sin embargo, son más comunes en niños de 0-5 años; pues son más vulnerables y los más afectados, debido a su inmadurez inmunológica y poco desarrollo de hábitos higiénicos para evitar esta afección. En este sentido, la infección parasitaria intestinal se ha convertido en la principal amenaza de los niños, pues puede afectar su desarrollo físico y mental, su capacidad de aprendizaje y, especialmente, su asistencia a la escuela (Liu *et al.*, 2015; Pazmiño *et al.*, 2022).

El principal síntoma que caracteriza a las infecciones parasitarias es la diarrea, la cual es definida como la emisión de tres o más heces pastosas o líquidas por día, o una emisión más frecuente de lo normal para un individuo. Esto es debido al desbalance en la fisiología de los procesos que se establecen en el intestino delgado e intestino grueso, en la absorción de iones, sustratos orgánicos, y, por consiguiente, el agua. En los niños, esto resultaría en la salida de más de 10 g/kg/24 h de heces en un día (Vos *et al.*, 2015; Claudine *et al.*, 2021).

Los protozoos entéricos continúan siendo uno de los principales agentes causantes de EDA a nivel mundial, con una morbilidad y mortalidad significativa tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), afectan a más de 270 millones de niños en edad preescolar cada año (Mafokwane *et al.*, 2023); especialmente en los países que luchan contra la escasez de agua, la falta de higiene y la falta de servicios de salud adecuados. Además, es difícil controlar las parasitosis intestinales en estas regiones debido al alto costo de las mejoras de infraestructura y la falta de proyectos educativos ofrecidos a la población (Prüss-Ustün *et al.*, 2019).

En los últimos años se han logrado avances que han incidido en el perfeccionamiento del tratamiento, del diagnóstico clínico y del diagnóstico microbiológico, este último cada vez más sensible, debido a la introducción de nuevas técnicas basadas en la biología molecular (Dacal *et al.*, 2020). Estas técnicas están asumiendo un rol cada vez más predominante en el diagnóstico microbiológico moderno, específicamente aquellas que se basan en la amplificación *in vitro* de ácidos nucleicos, como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), las cuales presentan una mejor sensibilidad en cuanto al diagnóstico de infecciones

por protozoos intestinales en comparación con la microscopía y las técnicas inmunodiagnósticas (Özkan-Ahmetoğlu) et al., 2023).

En Cuba, las EDA son todavía causa importante de morbilidad en niños, la cual ocasiona una elevada proporción de episodios severos que conducen a la hospitalización de los mismos o atención en consulta externa. En nuestro país, el estudio sistemático de pacientes con diarrea que requieren hospitalización generalmente no incluyen una batería diagnóstica de amplio espectro a patógenos entéricos, especialmente los protozoos intestinales (Núñez et al., 2003). Si bien *Blastocystis* spp. es el protozoo intestinal más frecuentemente identificado en muestras de heces en diversos estudios epidemiológicos en los últimos años (Aleaga et al., 2019), otros reconocidos agentes como *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* spp., se han identificado entre los principales microorganismos causantes de cuadros diarreicos en niños hospitalizados (Núñez et al., 2003).

Dada la necesidad de llevar a cabo investigaciones sobre la etiología infecciosa de las EDA, decidimos estimar la frecuencia de parásitos intestinales y sus características clínicas, epidemiológicas y microbiológicas en niños con cuadros diarreicos agudos en el Hospital Pediátrico Docente "William Soler" (HPD-WS). Es por ello que teniendo en cuenta la importancia del abordaje que se realizará en esta investigación ayudaría a tener una panorámica más integral de los agentes parasitarios más frecuentes que causan diarrea en niños atendidos, en dicho centro de salud, que atiende una amplia población pediátrica en la capital del país. Por todo lo anteriormente expuesto nos planteamos los siguientes objetivos de trabajo:

Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Caracterizar clínica, y epidemiológicamente las infecciones por protozoos intestinales en niños ingresados con cuadros diarreicos agudos de abril a diciembre de 2022.

1.2.2. Objetivos específicos:

1. Estimar la prevalencia de parásitos intestinales en niños ingresados con diarreas en el hospital William Soler”, en el periodo de abril a diciembre de 2022.
2. Relacionar la prevalencia de las infecciones por protozoos intestinales patógenos con características clínicas y epidemiológicas en niños ingresados con diarreas en el hospital William Soler”, entre abril y diciembre de 2022.
3. Relacionar la prevalencia de infecciones con protozoos intestinales patógenos con algunos factores de riesgo, en niños ingresados con diarreas en el hospital William Soler”, entre abril y diciembre de 2022.
4. Comparar los valores de sensibilidad de la PCR en tiempo real con el examen coproparasitológico para el diagnóstico *Giardia lamblia*.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Epidemiología de los parásitos intestinales

Las enfermedades diarreicas representan un problema de salud pública en el mundo, especialmente en los países en vías de desarrollo, donde representan una importante causa de morbilidad y mortalidad especialmente en niños menores de 5 años de edad, en donde se asocia con costos sustanciales en términos de tratamiento y hospitalización (Ataş, 2020). En este sentido, la Organización Mundial de la Salud (OMS) para 2025 estimó en 1.300 millones episodios de diarrea anual en países en desarrollo, con 4 millones de muertes por diarrea aguda, con aislamiento de patógenos entre 50-84% de los episodios y la no identificación de enteropatógenos en 20-40% (Girma y Aemiro, 2022).

Con respecto a enteroparásitos, aunque la mayor parte de los episodios de diarrea aguda son autolimitados, en ocasiones pueden presentarse complicaciones entre las que se incluyen principalmente el desequilibrio hidroelectrolítico, anorexia, astenia y otros síntomas que al prolongarse pueden conducir a un cuadro de deshidratación y desnutrición en grado variable, que amerite hospitalización e incluso la muerte (Girma y Aemiro, 2022). En este sentido, se ha estimado la mortalidad mundial por parásitos intestinales en el tercer lugar precedida por las infecciones respiratorias agudas y las diarreas de otra etiología (Weldesent et al., 2019).

Por otra parte, los protozoos gastrointestinales causan una morbilidad significativa en niños en países en vías de desarrollo en regiones con limitado acceso a los servicios médicos. Consecuentemente, es común que presenten episodios repetitivos severos que pueden ser fatales (Njoku et al., 2022). La giardiosis es causa principal de brotes de transmisión hídrica y dada la resistencia de los quistes de este protozoo, es probable que las infecciones por *Giardia* sean mucho más frecuentes en ambientes tropicales de lo que se estima, incluso en ausencia de brotes reportados y estudios epidemiológicos (Hajissa et al., 2022).

La infección por *Cryptosporidium* spp. es responsable entre 30% - 50% de las muertes de niños menores de 5 años, en los cuales representa la segunda causa de diarreas, siguiendo a la infección por rotavirus. La criptosporidiosis y la giardiosis tienden a estar asociadas con sistemas de agua recreacionales y municipales y la ecología de lugares donde se concentran un gran número de personas, como en círculos infantiles y orfanatos (Hajissa et al., 2022). *Cryptosporidium* spp. y *Giardia lamblia* son parásitos que infectan a una amplia variedad de animales domésticos por lo

que resulta un factor a considerar en niños que viven en localidades con desventajas económicas, en donde los animales domésticos y el ganado estén en contacto estrecho con la comunidad (Hajissa *et al.*, 2022).

Recientemente, el observatorio multicéntrico mundial de patógenos entéricos resaltó la importancia de *Cryptosporidium* spp. frente a muchos otros enteropatógenos como causa de diarrea con atención médica en niños pequeños en países en vías de desarrollo de África subsahariana y el sur de Asia, donde ocurren la mayoría de las muertes por diarrea en este grupo etario. *Cryptosporidium* fue la segunda causa principal (5-15 %) de diarrea moderada a grave en lactantes, teniendo un impacto negativo en el crecimiento lineal y un riesgo incrementado de muerte (Hajissa *et al.*, 2022).

El impacto económico y social de la infección crónica por parásitos intestinales en el desarrollo humano (malabsorción, malnutrición, anemia crónica y retardo en el crecimiento) y en la capacidad (retardo en el desarrollo cognoscitivo, ausentismo escolar e incapacidad laboral) pueden desestabilizar comunidades endémicas y perpetuar el nivel de pobreza local (Boltana *et al.*, 2021). Esto consecuentemente trae consigo efectos negativos en el desarrollo individual, económico y de salud pública en estas regiones del mundo (Murhima'Alika *et al.*, 2022).

2.2. Situación en Cuba de las parasitosis intestinales

Al triunfo de la Revolución Cubana en 1959, el país sólo disponía de un hospital rural. Cerca de 80% de los niños padecían parasitosis intestinales, lo que para ese entonces constituía la primera causa de muerte en Cuba y 60% de la población padecía malnutrición (Ferrer *et al.*, 1975).

El gobierno revolucionario, a través del Ministerio de Salud Pública, llevó a cabo múltiples estrategias para mejorar la calidad de vida de la población y revertir el escenario de salud existente en el momento. En 1983, se orientó la realización de la Primera ENPI, que a su término en 1984 reveló que 54,6% de la población estudiada se encontraba infectada por uno o más parásitos intestinales, 33% de ellos de importancia médica. El grupo de edad más afectado resultó el comprendido entre 5-14 años (Sanjurjo *et al.*, 1984). Tomando como punto de partida estos resultados se confeccionó un Programa Nacional para el Control del Parasitismo Intestinal, encaminado a disminuir la infección por estos parásitos en la población menor de 15 años. La última encuesta, realizada en 2009, encontró una prevalencia de helmintosis de 5,7% y protozoos patógenos 9,8% (Rojas *et al.*, 2012).

En Cuba, se han desarrollado numerosos trabajos encaminados a determinar la prevalencia de infección por parásitos intestinales y aspectos clínico epidemiológicos de interés vinculados a ellas en población infantil. La mayoría de estos estudios son locales, o hacen referencia a situaciones clínico epidemiológicas muy concretas (Álvarez, 1999; Arencibia, 2000; Fernández, 2002; Lavin *et al.*, 2008), no en unidades cerradas, como los hospitales pediátricos, de ahí la necesidad de incrementar este tipo de investigaciones en el país (Núñez *et al.*, 1999; Jerez Puebla *et al.*, 2017, Núñez *et al.*, 2017).

2.3. Principales parásitos intestinales que infectan a niños de 0-5 años

2.3.1 *Giardia lamblia*

Giardia lamblia (sinonimia de *G. duodenalis* y *G. intestinalis*) es un protozoo flagelado, agente etiológico de la giardiosis, una enfermedad gastrointestinal muy común en humanos y animales. La infección con este protozoo resulta una de las causas más frecuentes de diarrea y malabsorción a nivel mundial (Coronato *et al.*, 2016).

Este protozoo intestinal que habita el intestino delgado de sus hospederos presenta un ciclo de vida simple que comprende un estadio vegetativo, el trofozoito y el quiste, que es la forma infectante y de resistencia. La transmisión ocurre de forma directa, mediante contacto directo de persona a persona, o de forma indirecta, a través de la ingestión de aguas y alimentos contaminados (Widmer *et al.*, 2020).

La emergencia de esta parasitosis en estas regiones del mundo, y principalmente su impacto negativo en la salud de los niños fue el determinante para que la Giardiosis fuera incluida en la iniciativa de las enfermedades olvidadas de la OMS. De hecho, se reportan anualmente más de 200 millones de casos sintomáticos en África, Asia y América Latina, caracterizados por diarrea, dolor abdominal, flatulencia, pérdida de peso y síndrome de malabsorción, y sumado a esto cada año se registran 500 mil nuevos casos de infección por este flagelado patógeno (Savioli *et al.*, 2006).

G. lamblia se clasifica en ocho ensamblajes o grupos genéticos, designados de la letra A la H. El humano es infectado por dos de esos ocho ensamblajes genéticos reconocidos actualmente, nombrados A y B, los cuales probablemente representan especies diferentes (Rafiei *et al.*, 2020). La giardiosis es principalmente una infección pediátrica, con las mayores tasas de prevalencia observadas en niños de 1 a 4 años de edad (Widmer *et al.*, 2020).

El espectro clínico de la giardiosis va desde la forma asintomática hasta las formas sintomáticas más severas. De las cuáles la forma asintomática es la más frecuente, representando 80% de las personas infectadas. En el caso de la infección sintomática puede presentarse de dos formas: aguda y crónica. La forma aguda es la presentación clínica menos frecuente de la sintomática. El período de incubación varía desde siete días hasta cuatro semanas. La giardiosis en su forma crónica da lugar a manifestaciones digestivas parecidas a las que se producen durante la forma aguda: diarreas, flatulencia, dolor y distensión abdominal, vómitos, náuseas, anorexia, fatiga, pérdida de peso y deshidratación (Potgieter *et al.*, 2023).

Aunque el examen microscópico de las heces es el método más práctico y efectivo para establecer la presencia de la infección en el hombre, la eliminación de quistes puede ser intermitente, lo que pudiera producir falsos negativos. Por esta razón, es importante la realización de exámenes seriados con el fin de aumentar la sensibilidad (Potgieter *et al.*, 2023), Están diseñados y disponibles en el mercado internacional, inmunoensayos, ensayos inmunocromatográficos y paneles moleculares para la detección de *G. lamblia* en muestras de heces (Dacal *et al.*, 2020).

2.3.2 *Cryptosporidium* spp.

Cryptosporidium es un género de protozoos reconocido como una de las principales causas de enfermedad diarreica, contribuyendo significativamente a la carga global de gastroenteritis en niños pequeños (Widmer *et al.*, 2020). Este parásito intestinal pertenece al filo Apicomplexa, es intracelular obligado, monoxeno, con fases de reproducción sexual y asexual que ha sido ampliamente estudiado en la escala de vertebrados, incluida la especie humana (Fayer, 2008).

Desde la emergencia de *Cryptosporidium* como patógeno humano en 1976, su distribución global ha sido reconocida tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Las estadísticas publicadas abarcan valores desde 0,3 a 4,3% en los países de América del Norte hasta cifras que cubren el rango 3,2-31,5% en América Central y del Sur (Fayer, 2008; Kifleyohannes y Robertson, 2020). La criptosporidiosis adquirió verdadera importancia a partir de 1993, cuando se produjo el brote epidémico más importante a nivel mundial, en Milwaukee, EE.UU., que afectó a más de 400.000 personas (Mac Kenzie *et al.*, 1996).

En 2004, este parásito fue incluido en la iniciativa de las Enfermedades Olvidadas Tropicales de las OMS (Savioli *et al.*, 2006), teniendo en cuenta su relación con la pobreza, el efecto negativo

en la nutrición infantil, retardo en el crecimiento en niños y su efecto en pacientes inmunodeprimidos (Widmer *et al.*, 2020).

La criptosporidiosis es una infección especialmente prevalente en regiones donde la calidad del agua potable y las condiciones sanitarias son deficientes (Kifleyohannes y Robertson, 2020). Los ooquistes excretados en las heces de humanos y animales al ambiente sobreviven muchas condiciones ambientales. Se ha establecido que los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. son los más pequeños de los coccidios y se describen dos tipos: uno de pared gruesa que sale al exterior con las heces, resistente y transmisible por vía oral y el otro de pared delgada que posee una unidad de membrana simple, responsable de la infección endógena o autoinfección (Fayer, 2008; Mmbaga y Houpt, 2017).

La transmisión ocurre por la ingestión de agua contaminada con ooquistes, siendo esta vía indirecta la más significativa. La transmisión directa entre individuos se produce por falta de higiene o por contacto sexual anal-oral. El hacinamiento institucional (hospitales, guarderías, geriátricos) favorece la dispersión entre individuos, no necesariamente inmunocomprometidos, porque los ooquistes eliminados en las heces son completamente infectivos (Moore *et al.*, 2016).

La diarrea es el síntoma más común de la criptosporidiosis, pero las manifestaciones varían de acuerdo a la historia clínica de la persona afectada (Chalmers y Davies, 2010). De manera general, tres diferentes síndromes son descritos en la población: 1) personas inmunocompetentes presentan una diarrea prolongada de inicio súbito, con dolor abdominal, náuseas y vómitos. Los síntomas generalmente duran dos semanas y se auto limitan. 2) niños malnutridos menores de dos años experimentan una diarrea de moderada a severa que puede persistir y contribuir a un incremento en la morbilidad y mortalidad. 3) pacientes inmunodeprimidos sufren una diarrea crónica que es difícil de controlar, asociada con pérdida de peso, deshidratación y postración, y un incremento en la morbilidad y mortalidad, principalmente en pacientes con deficiencias en la inmunidad mediada por células T (Widmer *et al.*, 2020).

Los ooquistes de *Cryptosporidium* pueden ser detectados por microscopía, principalmente la tinción de Zielh-Neelsen modificada, la cual resulta la técnica de oro, combinada con técnicas inmunológicas y moleculares (Wu *et al.*, 2019). De las 36 especies descritas hasta el momento, estas solo pueden ser identificadas en especies mediante técnicas moleculares. Aunque la gran

mayoría son especies con especificidad de hospederos, principalmente mamíferos, las especies más comunes que infectan al humano son *C. hominis*, *C. parvum* y *C. meleagridis*, con diferencias geográficas en la distribución de especies y subtipos (Xu *et al.*, 2020).

2.3.3 *Entamoeba histolytica*

Entamoeba histolytica es un protozoo patógeno que causa amebiosis, y una importante causa de diarrea en países en vías de desarrollo (Norman *et al.*, 2020). La OMS reporta que *E. histolytica* afecta aproximadamente a 500 millones de personas a nivel mundial, resultando en una enfermedad sintomática en cinco millones de ellas, y una mortalidad de 100 mil personas cada año (Shirley *et al.*, 2019). Alrededor de 80-90% de las infecciones son asintomáticas, y son probablemente debidas a especies no patógenas como *E. dispar* y *E. moshkovskii* (Samie *et al.*, 2006; Samie *et al.*, 2019).

La amebiosis es básicamente una enfermedad aguda adquirida por la ingestión de quistes presentes en agua o alimentos contaminados, a través del contacto directo persona-persona, y a través del contacto sexual (Shirley *et al.*, 2019).

El ciclo de vida de este parásito está representado por dos estadios: el quiste y el trofozoito. El quiste es la forma infectante y no motil del parásito. Es excretado en las heces y puede sobrevivir varias semanas en el ambiente. El quiste maduro posee cuatro núcleos y un tamaño de 20 micras de diámetro. El trofozoito es la forma móvil, con un rango de tamaño de 10 a 60 micras. Coloniza el tracto intestinal y en muchos casos, los trofozoítos se mantienen confinados al lumen intestinal (infección no invasiva) de los individuos que se convierten en portadores asintomáticos, que excretan los quistes en heces. En algunos pacientes los trofozoítos invaden la mucosa intestinal (infección intestinal), o a través del torrente sanguíneo, en sitios extraintestinales como son hígado, cerebro y pulmones (infección extraintestinal) (Shirley *et al.*, 2019).

La amebiosis ha sido definida como las condiciones patológicas que se desarrollan por albergar *E. histolytica*, en personas con o sin manifestaciones clínicas (WHO, 1997). La amebiasis posee un amplio espectro de peculiaridades clínicas que van desde la infección asintomática hasta la amebiasis extraintestinal con desarrollo de abscesos. Cerca del 90% de los infectados son asintomáticos, portadores del parásito en forma de quiste, y solo el 10% de las personas infectadas desarrollan la forma patógena del protozoario que se manifiesta como trofozoíto,

presentando síntomas de la enfermedad. (Singh *et al.*, 2021) Según la presentación clínica, la amebiasis se puede manifestar en dos formas clínicas principales, la amebiasis intestinal y extraintestinal. La amebiasis intestinal, es la forma más común de enfermedad, ocurre cuando se invade la mucosa generalmente del ciego; y los síntomas van desde dolor abdominal hasta colitis ulcerosa con mucosidad y sangre, conocida como disentería amebiana. (Villamizar *et al.*, 2019) Por su parte, la amebiasis extraintestinal envuelve diversas formas de enfermedades dependiendo del órgano infectado, que generalmente son el hígado y pulmón derecho, aunque también se han descrito casos de afectación pulmonar izquierda y pericárdica por continuidad anatómica. Aunque estas formas clínicas comparten varios síntomas usuales, como fiebre, pérdida de apetito o náuseas, algunos signos son específicos de la forma clínica. Sin embargo, en este estadio, la amebiasis puede ser fatal si no se tiene un diagnóstico y tratamiento temprano y adecuado. (Guevara *et al.*, 2019)

2.3.4 *Blastocystis* spp.

Si bien hace más de 100 años de su descubrimiento, *Blastocystis* sigue siendo enigmático en varios aspectos, incluyendo la taxonomía, ciclo de vida, patogenicidad y transmisión (Alfellani *et al.*, 2013). Estudios moleculares de la secuencia de la subunidad menor del ARNr ha situado a este protozoo intestinal en un grupo informal conocido como estramenopilos (Abe *et al.*, 2015).

Blastocystis es uno de los parásitos intestinales más frecuentemente identificados en muestras de heces de humanos y en una amplia variedad de animales domésticos y salvajes. Hasta la fecha se han identificado 17 subtipos (STs) utilizando diferentes técnicas moleculares. Al menos ocho subtipos (ST1-ST8) son compartidos entre humanos y otros hospederos no humanos, sugiriendo una potencial transmisión zoonótica y antroponótica (Bahrami *et al.*, 2020). Los subtipos del 1 al 4 de *Blastocystis* causan más de 95% de las infecciones en el humano, teniendo los ST1, 2 y 3 una distribución mundial (Alfellani *et al.*, 2013; Roberts *et al.*, 2014; del Coco *et al.*, 2017).

Este parásito es altamente pleomórfico, existiendo en múltiples formas (del Coco *et al.*, 2017). La forma clásica de *Blastocystis* que se encuentra en las heces de humanos es el quiste, que varía extensamente en tamaño de 6 a 40 μm . Los quistes infectan las células epiteliales del tracto digestivo y se multiplican asexualmente. La forma vacuolar del parásito da origen a la forma multivacuolar y la forma ameboidea. La forma multi-vacuolar se desarrolla en un pre-quiste que

da origen al quiste de pared delgada, que se cree que es responsable de la autoinfección (Boreham y Stenzel, 1993).

Blastocystis es probablemente el parásito más prevalente que coloniza y/o infecta el intestino grueso en al menos mil millones de personas a nivel mundial (Stensvold, 2015). La clínica y la importancia en la Salud Pública de *Blastocystis* en la salud humana está todavía en debate, a pesar del cúmulo de datos proporcionados por estudios multidisciplinarios (Kodio et al., 2019; Betts et al., 2020). Si *Blastocystis* spp., produce síntomas en humanos todavía es una cuestión en debate, si bien las evidencias apuntan de que sí es un patógeno. Aquellos que creen que los síntomas se relacionan con la presencia del parásito describen un espectro de la enfermedad que incluye diarrea acuosa, dolor abdominal, fatiga, pérdida de peso, flatulencia y en ocasiones, manifestaciones cutáneas e inflamación intestinal. La severidad de los síntomas puede ser influenciada por factores innatos del hospedero como la edad y el estado inmune (Abe et al., 2015).

2.3.5 *Ascaris lumbricoides*

Esta parasitosis es prevalente en al menos 150 de los 218 países a nivel mundial, con predominio de la infección en países tropicales y subtropicales, en climas húmedos y cálidos, y en áreas donde la pobreza y las malas condiciones higiénico sanitarias prevalecen, principalmente en África Subsahariana y el Sudeste Asiático (Masaku et al., 2020).

Según cifras de la OMS, más de 800 millones de personas se encuentran infectadas globalmente, siendo el principal grupo vulnerable, la población pediátrica, lo cual representa uno de los más importantes desafíos de la salud pública mundial (Halliday et al., 2019). Se estima que la mortalidad anual a nivel mundial es de unas 10 mil muertes (Karshima, 2018). La intensidad de la infección medida por el número de huevos expelidos por el hospedero después de la quimioterapia o el número de huevos por gramos de heces evidencia que los niños albergan más vermes que los adultos (Masaku et al., 2020).

La mayoría de las infecciones son asintomáticas en más de 85% de las personas infectadas, especialmente cuando el número de parásitos adultos es poco. Las infecciones moderadas e intensas causan una variada sintomatología en dependencia de cuál parte del cuerpo es afectada. Dolor abdominal, náusea, vómito, malnutrición, obstrucción intestinal y pancreatitis pueden

ocurrir en estadios avanzados del cuadro clínico de esta parasitosis intestinal (Masaku *et al.*, 2020).

A. lumbricoides es el mayor de los nematodos que habitan el intestino humano, generalmente en áreas del yeyuno del intestino delgado (Hayashi *et al.*, 2019). Los parásitos adultos machos miden de 15 a 31 cm de largo por cuatro milímetros de ancho y presentan una curvatura ventral en su extremo posterior. Los parásitos adultos hembras son de mayor tamaño, 20-49 cm, y presentan un ancho de tres a seis milímetros. Los huevos fértiles e infecundos son típicamente encontrados en las heces y presentan un color pardo y forma redondeada a ovoide (Kouri, 1982).

Las personas se infectan con *Ascaris* al ingerir los huevos embrionados a través del consumo de agua y/o alimentos contaminados. En el intestino ocurre la eclosión del huevo embrionado, y la larva migra a través del hígado a los pulmones, posteriormente a la tráquea y son deglutidas, retornando por ende al intestino, en donde maduran en parásitos adultos hembras y machos. Después de la copulación las hembras liberan huevos que son excretados en las heces al ambiente, en donde necesitan de tres a seis semanas para embrionar dependiendo de la temperatura. Estos huevos pueden persistir hasta seis años en el ambiente, por lo que se considera a la ascariosis como un ejemplo de enfermedad ambiental (Davis *et al.*, 2018).

2.3.6 *Trichuris trichiura*

T. trichiura es un parásito metazoa del grupo de los geohelminetos que presenta una amplia distribución mundial y en algunas áreas del mundo se ha convertido en el geohelmineto más prevalente según algunos estudios (Yu *et al.*, 2017). Se estima que de 600 a 800 millones de personas se encuentran infectadas por este nematodo intestinal, sin embargo, esta cifra pudiera ser conservadora ya que solo 10% de los sujetos infectados presentan sintomatología.

Los niños de edad escolar muestran las mayores tasas de prevalencia a nivel mundial, debido probablemente a un incremento en la exposición a suelos contaminados y una protección parcial de la respuesta inmune después de exposiciones repetidas. Dado que la tricuriasis es raramente severa en adultos y se encuentra ampliamente distribuida en poblaciones desfavorecidas en regiones rurales, es considerada una enfermedad olvidada por la OMS, al igual que la ascariosis y la ancilostomiosis (Masaku *et al.*, 2020). La infección crónica en niños puede conducir a cambios en el desarrollo cognoscitivo, bajo rendimiento escolar y afectación en el crecimiento (Veesenmeyer, 2022).

Las manifestaciones clínicas varían en dependencia del grado de infección. Las infecciones ligeras son generalmente asintomáticas, mientras que las infecciones intensas pueden manifestar diarrea sanguinolenta, anemia, y retardo en el crecimiento si no es tratada oportunamente. El prolapso rectal está asociado también con las infecciones intensas (Yu *et al.*, 2017).

T. trichiura es un nematodo que pertenece al orden Trichocephalida. El parásito adulto mide de 40 a 45 mm en las hembras y de 30 a 35 mm en los machos, y muestran un color de grisáceo a blanco, y en ocasiones rosados. Los parásitos adultos machos presentan su extremidad posterior enroscada como la cuerda de un reloj, correspondiendo su convexidad a la cara ventral, mientras que las hembras tienen su porción gruesa arqueada (Kouri, 1982). Los parásitos adultos hembras ponen de tres mil a 20 mil huevos no embrionados cada día que son excretados en las heces del humano, el cual representa el único hospedero para *T. trichiura*. Los huevos embrionan en el ambiente para convertirse en estadios infectivos, los cuales al ser ingeridos por una persona susceptible establecerá un nuevo ciclo de infección (Veesenmeyer, 2022).

2.3.7 Ancilostomideos

Los ancilostomideos es una infección helmíntica causada principalmente por *Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*. A nivel mundial se reportan cada año de 570 a 740 millones de personas infectados por estos geohelminths, principalmente en áreas rurales tropicales y subtropicales de Asia, África Subsahariana y Latinoamérica (Clark *et al.*, 2020). Si bien la mayoría de estas infecciones son asintomáticas, 10% del total presentan un cuadro de anemia y malnutrición en países en vías de desarrollo. Los ancilostomideos pueden persistir por varios años en el hospedero e interferir con el desarrollo físico e intelectual de los niños (Halliday *et al.*, 2019).

La principal manifestación clínica es la pérdida de sangre secundaria a nivel del intestino delgado. De hecho, la ancilostomiosis se ha referido históricamente a un síndrome infantil de anemia por deficiencia de hierro, malnutrición por proteínas y retardo en el crecimiento y desarrollo cognoscitivo de los niños (Halliday *et al.*, 2019). Los ancilostomideos ingieren y digieren la sangre de la mucosa intestinal dañada mediante una cascada multienzimática de metalohemoglobinasas. *N. americanus* puede ingerir 0,03 mL de sangre diariamente, mientras que *A. duodenale* de 0,15-0,2 mL de sangre al día (Loukas *et al.*, 2016). La inhibición del factor de coagulación del hospedero por parte de varios anticoagulantes dirigidos contra el factor Xa y

el complejo factor tisular-factor VIIa, así como contra la agregación plaquetaria, exacerbando la pérdida de sangre (Loukas *et al.*, 2016).

Tres entidades clínicas pueden ser causadas por la infección por los ancilostomídeos: 1) infección gastrointestinal causada por *N. americanus* y *A. duodenale*, 2) larva migrans cutánea, infección limitada a la piel comúnmente causada por *A. brasiliense*, parásito cuyo hospedero definitivo son los perros y gatos y 3) enteritis eosinofílica, infección gastrointestinal causada por *A. caninum* caracterizada por dolor abdominal, pero sin anemia (Loukas *et al.*, 2016).

El parásito adulto hembra de *A. duodenale* mide de 10 a 18 mm de longitud, mientras que el macho mide de 8 a 11 mm de longitud. Una vez fijado, presenta una posición más irregular, y la extremidad cefálica es recta o con una curva muy ligera que sigue la curva general del cuerpo, siempre menos marcada que la de *N. americanus*. Presenta este género una cápsula bucal con dos pares de ganchos y la hembra posee la vulva en el tercio posterior y en su extremo terminal un apéndice caudal. El macho presenta la bolsa copulatriz con 11 ó 13 costillas. Sus dos espículas son divergentes y terminan en una punta fina (Kouri, 1982).

Los huevos y las larvas rhabditiformes o rhabditoides son similares en ambos parásitos, ninguna de estas formas parasitarias es infectante para el hombre. Los huevos son ovalados y miden aproximadamente 60 micras. Están formados por una envoltura transparente y sumamente delgada, y contienen un embrión segmentado, que puede ir variando según el grado de maduración (Kouri, 1982).

2.4 Transmisión

La infección humana por parásitos intestinales generalmente tiene lugar por vía oral, producto de la ingestión de quistes, huevos o larvas presentes en el suelo, agua y alimentos contaminados. También se ha descrito en algunos casos la infección transcutánea, como resultado de la penetración del parásito a través de la barrera epitelial, que puede encontrarse incluso intacta al momento de la infección (Gill *et al.*, 2020).

La mayoría de los parásitos intestinales utilizan la materia fecal como vehículo de dispersión en la naturaleza. Así, su importancia desde el punto de vista epidemiológico radica no sólo en los daños que ocasionan a la salud humana, sino en que la mayor prevalencia de ellas se presenta en poblaciones marginales, con condiciones higiénicas y socioeconómicas desfavorables, de modo

que su permanencia en una población dada demuestra deficiencias en la infraestructura sanitaria y/o en los hábitos higiénico-sanitarios de la misma (Oswald *et al.*, 2019).

Las helmintosis transmitidas por el suelo se transmiten por los huevos eliminados a través de las heces de las personas infectadas. Los parásitos adultos viven en el intestino, donde producen miles de huevos cada día. En las zonas que carecen de sistemas adecuados de saneamiento, esos huevos contaminan el suelo, lo que puede ocurrir por distintas vías (McCarty *et al.*, 2014):

- A través de hortalizas insuficientemente cocidas, lavadas o peladas.
- A partir de fuentes de agua contaminadas.
- En el caso de los niños, al jugar en el suelo contaminado y llevarse las manos a la boca sin lavárselas.

A continuación, se mencionan los principales factores de riesgo que contribuyen a la transmisión de las parasitosis intestinales (McCarty *et al.*, 2014):

- Fecalismo al aire libre: permite la diseminación de quistes, huevos y larvas en la población.
- Inadecuada higiene personal, el agua y los alimentos.
- Existencia de condiciones medioambientales favorables para el desarrollo parasitario, básicamente temperaturas cálidas y suelos húmedos.
- Migraciones humanas: contribuyen a trasladar la infección de un lugar a otro y entre poblaciones diferentes.

Los factores de riesgo anteriores se han identificado tradicionalmente como los principales responsables del incremento de la transmisión de las parasitosis intestinales. Sin embargo, no menos importante es la falta de conocimiento de la población, particularmente de las comunidades afectadas, sobre las causas y consecuencias que estas parasitosis acarrearán. Es por ello, que la educación sanitaria encaminada a que dicha población comprenda su papel activo en la prevención y control de estas infecciones, es un componente esencial a tener en cuenta en los programas de control actuales, dirigidos a este fin (Mekete *et al.*, 2019).

2.5 Diagnóstico

Para lograr un adecuado diagnóstico de las parasitosis intestinales es necesario, al igual que para el resto de las enfermedades infecciosas, realizar una adecuada valoración clínica y de los antecedentes epidemiológicos del paciente. Sin embargo, los métodos y técnicas de laboratorio resultan cruciales para un diagnóstico de certeza (Incani *et al.*, 2017). El mismo se realiza

fundamentalmente por la identificación microscópica de formas parasitarias en el examen directo de materia fecal, que como su nombre indica, permite la observación directa de estadios parasitarios (quistes, trofozoitos, ooquistes, larvas y huevos) en las heces, el cual es considerado todavía el método de referencia o “gold standard” para el diagnóstico de enfermedades parasitarias. Debido a su bajo coste y mínimo equipamiento requerido, este método es particularmente adecuado para su uso en áreas endémicas con escasos recursos, donde la alta prevalencia parasitaria hace que la utilización de técnicas con mejores prestaciones diagnósticas no sea coste-efectiva (Incani *et al.*, 2017).

El análisis de heces teñidas con lugol es el procedimiento más frecuentemente empleado en la red de Laboratorios de Parasitología Clínica, pues permite el diagnóstico de las distintas parasitosis intestinales con un coste muy bajo y una sensibilidad que puede alcanzar 75% en caso de muestras seriadas (Incani *et al.*, 2017). Sin embargo, la eliminación cíclica e irregular de determinados parásitos, así como su emisión escasa y distribución irregular en las heces, con frecuencia conllevan a resultados falsos negativos. En tales casos se considera oportuno el empleo de métodos de diagnóstico que concentren el número de elementos parasitarios presentes en la materia fecal, lo que facilita la observación al microscopio de estos elementos, incluso en muestras con baja carga de infección (Núñez y Cordoví, 2006).

Ejemplos de estos métodos lo constituyen el Método de Willis y el Método de Ritchie. El primero concentra los elementos parasitarios por flotación en solución saturada de cloruro de sodio de alta densidad ($\rho = 1200$), lo que facilita la observación de huevos ligeros de helmintos, aunque se recomienda específicamente para el diagnóstico de ancilostomídeos (Núñez y Cordoví, 2006).

Por su parte, el Método de Ritchie, concentra por sedimentación, y resulta útil en la observación de quistes de protozoos y huevos pesados de helmintos. Cabe resaltar que los métodos parasitológicos de concentración no resultan adecuados para la observación de trofozoítos, pues estos pierden su integridad a causa del propio algoritmo seguido en dichos procedimientos (Núñez y Cordoví, 2006).

Desde finales de la década del 90 del pasado siglo se han desarrollado otros métodos diagnósticos con el objetivo de mejorar el rendimiento de los tradicionales. Entre ellos se encuentran las técnicas serológicas para la detección de anticuerpos o antígenos parasitarios. Dado que el examen microscópico de muestras de heces requiere de personal entrenado y experimentado, las pruebas de detección de antígenos se han desarrollado como métodos alternativos utilizando

formatos de inmunoensayos enzimáticos como los ELISA (del inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), y tiras inmunocromatográficas de diagnóstico rápido disponibles para la detección conjunta de antígenos de *Giardia* y/o *Cryptosporidium*. Los métodos de detección de antígenos pueden ser realizados de forma rápida y no se requiere un personal de experiencia. Hasta la fecha se han validado varias pruebas de detección de antígenos para parásitos intestinales como *Cryptosporidium* spp., *E. histolytica*, *Blastocystis* spp., y *G. lamblia* (Le-Sheng *et al.*, 2017).

Las técnicas moleculares, en particular aquellas que emplean la amplificación *in vitro* del ADN como la PCR, han sido de gran importancia en el diagnóstico molecular de agentes infecciosos de etiología parasitaria al detectar ADN parasitario con elevada sensibilidad y especificidad (Mero *et al.*, 2017). La PCR en sus diferentes formatos presenta una elevada sensibilidad, especificidad, reproducibilidad y relativa sencillez de manejo y rapidez, están específicamente diseñadas para fines diagnósticos y de caracterización molecular de aislados se utilizan cada vez más en laboratorios clínico. Actualmente existen descritos diferentes formatos de detección múltiple para protozoos entéricos causantes de diarrea (*Cryptosporidium* spp., *G. duodenalis*, *E. histolytica*), de los miembros más destacados de los filos Stramenopiles (*Blastocystis* sp.), así como de los helmintos transmitidos por suelo (*Ancylostoma* spp., *A. lumbricoides*, *N. americanus*, *S. stercoralis* y *T. trichiura*) (Incani *et al.*, 2017).

2.6 Efectos nutricionales

Generalmente los síntomas que apuntan a la presencia de un parásito intestinal están relacionados con la intensidad de la infección. Una infección ligera por protozoos o helmintos intestinales de importancia médica resulta frecuentemente en una infección asintomática, mientras que una infección de moderada a severa puede estar asociada con dolor y síntomas severos (Imam *et al.*, 2019).

Los efectos de los parásitos intestinales en el estado nutricional y de salud de los niños dependen de las especies infectantes, presencia de co-infección de especies, duración de la infección y el número de parásitos adultos presentes (Imam *et al.*, 2019).

Los mecanismos principales por los cuales los parásitos intestinales patógenos causan daño en el estado nutricional del hospedero humano son (Iqbal *et al.*, 2021):

- Causan malabsorción y mala digestión de los nutrientes (*G. lamblia*, *Cryptosporidium* spp.)
- Provocan una respuesta inflamatoria que puede afectar el apetito e ingestión de alimentos o modifican el metabolismo y almacenamiento de elementos esenciales como el hierro.
- Los geohelminetos se alimentan de tejidos del hospedero, en particular de sangre, lo que determina una pérdida de hierro y proteínas.
- Los geohelminetos hacen que se absorban mal los nutrientes. Además, *A. lumbricoides* posiblemente compite por la vitamina A en el intestino.
- Algunos helmintos transmitidos por el suelo también pueden causar pérdida de apetito y, por consiguiente, un deterioro del aporte nutricional y de la condición física. En particular, *T. trichiura* puede causar diarrea y disentería.
- Inducen una respuesta típica a la infección, como fiebre y un aumento en la tasa metabólica.

2.7 Tratamiento medicamentoso para parasitismo intestinal

Las opciones de la farmacoterapia en las infecciones causadas por protozoos y helmintos intestinales en niños han sido extensamente evaluadas (Escobedo et al., 2009). Los fármacos antihelmínticos para el tratamiento de los nematodos fueron originalmente diseñados para ser usados en individuos con infecciones diagnosticadas y evolucionaron de estudios de las ciencias veterinarias (Iqbal *et al.*, 2021).

Desde inicios de la década de 1960 y después desarrollándose en la década de 1970, se reconoció que en orden de un impacto en la carga helmíntica global era necesario expandir el uso de estos fármacos a escala masiva. Es por ello que los trabajos pioneros de Bundy (Bundy *et al.*, 1990), Stephenson (Stephenson *et al.*, 1990) y otros, proporcionaron evidencias que las intervenciones teniendo como diana a los niños sin diagnóstico, podría reducir sustancialmente la carga parasitaria en la comunidad, no solo en aquellos tratados sino también en la porción no tratada de la población, principalmente los adultos. Por muchos años, las intervenciones han sido dirigidas principalmente a los niños a través de los centros de enseñanza primaria (Iqbal *et al.*, 2021).

El grupo de los benzimidazoles comprende hidrocarburos aromáticos y heterocíclicos, caracterizados por la fusión de benceno e imidazol. El compuesto benzimidazol más prominente

en la naturaleza es el N-ribosil-dimetilbenzimidazol, que sirve como ligando axial del cobalto en la vitamina B12. El albendazol (400 mg) y mebendazol (500 mg) son los fármacos más utilizados por la OMS en el tratamiento de los nematodos intestinales, los cuales se unen a la β -tubulina del parásito. Estos medicamentos son eficaces, baratos y de fácil administración por personal no médico (por ejemplo, profesores) y han superado amplias pruebas de seguridad con efectos secundarios escasos y leves (Moser *et al.*, 2019).

El arsenal quimioterapéutico contra los protozoos intestinales es menos vulnerable a la resistencia que es observada con los antihelmínticos (Escobedo *et al.*, 2009). Los fármacos del grupo de los 5-nitroimidazoles constituyen el tratamiento de elección en la giardiosis, amebiosis y blastocistosis, e incluyen al metronidazol, tinidazol y ornidazol (Escobedo *et al.*, 2009). El albendazol originado inicialmente como un antihelmíntico veterinario, después como un antihelmíntico humano, presenta una buena eficacia en el tratamiento de la giardiosis (Argüello-García *et al.*, 2020).

La nitazoxanida, derivado tiazólico, es un fármaco novedoso empleado actualmente en el tratamiento de las infecciones causadas por *Cryptosporidium* spp., y *G. lamblia*. Este fármaco fue desarrollado inicialmente en la década de 1970, en el campo de la veterinaria contra la infección de cestodos, no obstante, se ha demostrado la acción sinérgica que presenta contra una amplia variedad de microorganismos, que incluyen no solamente protozoos intestinales, sino también helmintos en comunidades endémicas (Fahmy *et al.*, 2021).

2.8 Prevención y control

La estrategia de control de los parásitos intestinales consiste en controlar la morbilidad tratando periódicamente a las personas en situación de riesgo que viven en zonas endémicas. Las personas en riesgo son las siguientes (Clarke *et al.*, 2017; Moncayo *et al.*, 2018):

- niños en edad preescolar;
- niños en edad escolar;
- mujeres en edad fecunda (en particular las embarazadas durante el segundo y tercer trimestres de la gestación y las mujeres lactantes);
- adultos con algunas ocupaciones de alto riesgo, como recolectores de té o mineros.

La infección por parásitos intestinales involucra complejas interacciones entre el ciclo de vida parasitario y la conducta del ser humano. Por ende, las medidas de prevención de mayor eficacia

son aquellas encaminadas a cortar el ciclo de transmisión epidemiológica, entre las que se encuentran (McCarty *et al.*, 2014):

- Evitar el fecalismo a aire libre: para ello debe tenerse en cuenta no sólo el mejoramiento de la infraestructura y condiciones de vida de la población afectada, sino la puesta en marcha de intervenciones educativas encaminadas a incrementar el nivel de información de la población, lo que permitirá cumplimentar las normas básicas de higiene y con ello, que se expongan con menor probabilidad a las fuentes de infección de estas parasitosis.
- Mantener una adecuada higiene personal: particularmente el lavado de manos antes de consumir alimentos y después del uso del servicio sanitario. Además, se debe brindar especial atención a los infantes, ya que constituyen, los más vulnerables de infectarse.
- Garantizar una adecuada higiene del agua y los alimentos: ingerir agua hervida o previamente clorada y realizar una adecuada cocción de los alimentos, así como un correcto lavado de aquellos que se consumen crudos.
- Mantener una adecuada higiene de la vivienda: Mantener los pisos, paredes y alrededores limpios y secos.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Diseño del estudio

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal en el HPD-WS de La Habana en conjunto con el Laboratorio Nacional de Referencia de Parasitismo Intestinal del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (LNR-PI-IPK). El universo estuvo representado por todos los niños de 0-5 años hospitalizados en el HPD-WS con enfermedad diarreica aguda en el período comprendido de abril a diciembre del 2022, y que tuvieron el autorizo de sus padres o tutores (Anexo 1). La muestra de estudio quedo conformada por 113 niños.

Se colectó una muestra de heces de cada niño, el día del ingreso, para estudio parasitológico. A todas las muestras se les realizó las siguientes técnicas de laboratorio: examen directo, técnica de Willis, la técnica de Ziehl-Neelsen modificada y PCR en tiempo real para *G. lamblia*.

A los padres o tutores de los participantes se les explicó con un lenguaje sencillo y claro sobre el objetivo de esta investigación. Una vez explicado el propósito de este estudio se les entregó un frasco para la conducta de la toma de muestra y se les solicito el llenado de un cuestionario para la recogida de sus datos personales, clínico y epidemiológicos (Anexo 2).

3.2. Criterio de inclusión y exclusión

3.2.1. Criterio de inclusión

- Para este estudio solo se incluyeron niños de 0-5 años, hospitalizados con cuadros de EDA cuyos padres o tutores aceptaron participar voluntariamente.
- Niños sin tratamiento antiparasitario o antimicrobiano desde una semana antes del ingreso hospitalario.

3.2.2 Criterio de exclusión

- Niños que no tuvieron el consentimiento informado de sus padres o tutores y/o con el tratamiento antiparasitario o antimicrobiano.

3.3 Toma y traslado de las muestras

El Laboratorio de Microbiología del HPD-WS proporcionó a los padres o tutores de los niños con criterios de inclusión, envases plásticos nuevos desechables para la colecta de la muestra de heces fresca o recién emitida. Las investigadoras (Dra. Madelaine Miranda y Dra. Lucía Ayllón) les explicaron a los padres o tutores de los niños que era necesario solo una porción de la muestra total de heces. De manera clara instruyeron de todas las medidas necesarias a seguir para obtener una buena recolección de muestra, evitando una contaminación con orina. El envase con muestra de heces fresca o recién emitida se trasladó al laboratorio de microbiología del HPD-WS donde fue trabajada de la siguiente manera: Del frasco original que contenía las heces, se trasladó cinco gramos a frascos limpios con preservante de dicromato de potasio a 2,5% (Sigma, Estados Unidos). Todos los frascos con preservante fueron entregados previamente al Laboratorio de Microbiología del HP-HWS por parte del LNR-PI-IPK) y se conservaron a 4°C. Una vez a la semana en un contenedor de triple empaque para muestras fueron transportadas al LNR-PI-IPK. La porción restante del frasco original se trabajó en LM-HWS para el diagnóstico parasitológico: examen directo, técnica de Willis y la técnica de Zielh-Neelsen modificada.

Los envases con muestra de heces preservadas fueron transportados al LNR-PI-IPK, en donde se centrifugaron (Hitachi, Japón) por tres minutos a 800 g para obtener el sedimento, a partir de este se procesaron las siguientes técnicas coproparasitológicas: examen directo, técnica de Willis, la técnica de Zielh-Neelsen modificada y PCR en tiempo real para *G. Lamblia*. Fue necesario lavar las muestras con dicromato de potasio al 2,5% hasta que estuvieran libre de este preservante, para poder realizar la extracción manual de ADN.

3.3.1 Técnicas parasitológicas para el diagnóstico e identificación de parásitos intestinales

Todas las muestras de heces se procesaron mediante las siguientes técnicas coproparasitológicas que se describen a continuación, siguiendo la metodología del manual de técnicas básicas para el diagnóstico de las parasitosis intestinales (Núñez y Cordoví, 2006).

3.3.1.1 Examen directo con lugol parasitológico

Se tomó un pequeño fragmento de heces del sedimento y se diluyó, sobre un portaobjeto, con una gota de lugol, respectivamente. Se colocó un cubreobjeto y se observó al microscopio con lente ocular 10X y con objetivo 10X primero para el diagnóstico de larvas y huevos de helmintos, y posteriormente a 40X para observar los protozoos intestinales. La tinción con lugol, permitió la coloración de estructuras internas, tales como núcleos y vacuolas de glucógenos, importantes en la diferenciación de protozoos intestinales.

3.3.1.2 Técnica de Willis modificada para huevos ligeros de helmintos

En un vasito plástico o de cristal de no más de 30 mL de capacidad, preferentemente cilíndrico o cónico, se vertieron de 10 a 15 mL de la solución de alta densidad a base de sal, azúcar y una pequeña cantidad de formol en las siguientes proporciones: 180 g de cloruro de sodio, 500 g de azúcar, 20 mL de formol a 40 % y 1200 mL de agua corriente. Para una densidad de 1200.

Se disolvieron aproximadamente 2 gr. de las heces en la solución de alta densidad con un aplicador de madera o plástico desechable. Una vez llenado el vasito con la misma solución hasta el borde sin que rebosase, se colocó un portaobjetos de manera que el líquido contactara con la superficie del portaobjeto y se mantuvo así de 15 a 20 minutos. Pasado ese tiempo, se tomó el portaobjetos con un movimiento de volteo rápido de manera que el líquido no se escurriera de la lámina y se trasladó al microscopio para su observación con ocular 10X y objetivo 10X, recorriendo toda la lámina con ese aumento y posteriormente a 40X para definir la morfología de los huevos.

3.3.1.3 Coloración de Zielh Neelsen modificada para coccidias intestinales

Esta técnica de coloración constituye el método de referencia para el diagnóstico de certeza de los coccidios intestinales: en especial, *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora cayetanensis* y *Cystoisospora belli*.

A las muestras de heces líquidas se les realizó una extensión en lámina portaobjeto. Cada extendido se fijó en metanol durante cinco minutos y posteriormente se realizó el secado de las mismas a temperatura ambiente. Las láminas se colocaron durante una hora en una solución de fucsina fenicada, y se lavaron con agua corriente, una vez transcurrido este

tiempo. La decoloración de los extendidos se llevó a cabo con solución de H₂SO₄ a 2% durante 20 seg. Tras el lavado de las láminas con agua corriente se colorearon con solución de verde malaquita a 5% durante 5 minutos. Las láminas se observaron las láminas al microscopio con lente ocular 10X y objetivo 40X.

3.3.2 Diagnóstico molecular para *Giardia lamblia*:

3.3.2.1 Extracción del ADN

Para la extracción del ADN genómico de los parásitos se utilizó el método comercial de extracción de ADN a partir de muestras de heces QIAamp® DNA Stool (Qiagen, 2012).

En síntesis: del sedimento obtenido tras la centrifugación inicial de la muestra de heces, se pesaron 200 mg de heces en un vial de 2 mL y se almacenaron a -20°C hasta su utilización. Posteriormente se adicionó 1,4 mL de tampón ASL a cada muestra. Las muestras se calentaron a 70 °C por 5 minutos. Los viales se centrifugaron a máxima velocidad por 1 minuto y se separaron 1,2 mL del sobrenadante de cada muestra a un nuevo vial de micro centrifuga de 2 mL. Se descartó el sedimento y se adicionó una mezcla de inhibidores (Qiagen, Alemania) a cada muestra con agitación mediante vortex (Engine, Estados Unidos) por 1 minuto, o hasta que la tableta quedara completamente disuelta. Las muestras se incubaron a temperatura ambiente por 1 minuto en esta suspensión, para después centrifugar a máxima velocidad los viales por tres minutos. Posteriormente, se separó a nuevos viales de micro centrifuga de 1,5 mL todo el sobrenadante para realizar otro proceso de centrifugación a máxima velocidad por 3 minutos. Se pipetearon 15 µL de proteinasa K a nuevos viales de micro centrifuga de 1,5 mL, se le adicionaron 200 µL del sobrenadante del paso anterior a los viales de microcentrífuga que contenían la proteinasa K y se adicionaron 200 µL de Buffer AL. Se dio vortex por 15 segundos y se incubaron los viales a 70 °C por 10 minutos. Posteriormente se adicionaron 200 µL de etanol (96-100%) al lisado, se dará vortex por 15 segundos y se trasladó el lisado para las columnas QIAamp que provee el kit. Se centrifugaron las columnas a máxima velocidad por 1 minuto y se lavarán con los tampones AW1 y AW2 mediante procesos de centrifugación de 1 minuto a máxima velocidad. Se adiciono 200 µL del tampón de elución y se centrifugo por 1 minuto a máxima velocidad y se conservó el ADN eluido a -20°C para su posterior uso. Este proceso de extracción

garantizó la obtención de ADN de calidad para estudios moleculares en un periodo de tiempo de tan solo 1,5 horas.

En cada ronda de extracción de ADN se utilizaron dos controles, un control positivo de extracción, correspondiente a un aislamiento *G. lamblia* y un control negativo correspondiente a agua destilada estéril.

3.3.2.2 PCR en Tiempo Real para *Giardia lamblia*

La amplificación de 130 pb del ARNr18S de *G. lamblia* se realizó con los siguientes cebadores *Giardia*18S-99F (5'-GACGGCTCAGGACAACGGTT-3'), *Giardia*18S-125R (5'-TTGCCAGCGGTGTCCG-3') y la sonda *Giardia* 18D-105T (FAM 5'-CCCGCGGCGGTCCCTGCTAG-3'-BHQ) como describen Verweij y otros en 2003. La mezcla de la reacción comprendió 0,9 µM de cada cebador; 0,1 µM de la sonda, 3 mM de MgCl₂, 0.1 mg/mL de albúmina de suero bovino (Fisher Biotec, Australia), buffer de PCR 2X (HotStarTaq Master Mix, QIAGEN, Hilden, Alemania) y 5µL del ADN extraído. La PCR en tiempo real se realizó en un Rotor Gen 5-Plex (Qiagen) con las siguientes condiciones de amplificación: 10 min a 95 °C, seguido de 55 ciclos de 15 seg a 95 °C, y 60 seg a 60 °C. El análisis y detección de los productos se llevó a cabo con el software del Rotor Gen 5-Plex (Qiagen). Se consideró como positivos aquellas muestras que tuvieron un valor de corte (Ct) por debajo de 37 según Verwell et al. (2003). En cada corrida se utilizó un control positivo correspondiente a un aislamiento de *G. lamblia* y como control negativo se utilizó agua destilada estéril en vez de ADN molde en un vial de mezcla.

3.4 Recolección de la información

Para la recogida de datos clínico-epidemiológicos se utilizó un cuestionario previamente confeccionado (Anexo 2) y empleado previamente por el LNR-PI-IPK en otras investigaciones similares (López *et al.*, 1993). Los principales síntomas recogidos en el cuestionario fueron: diarrea, dolor abdominal, pérdida de peso, vómito, falta de apetito, deshidratación, cefalea, entre otros. La definición de síntomas y signos se realizó de acuerdo a la definición de criterios semiológicos clásicos (Llanio *et al.*, 1991).

Las variables epidemiológicas que se recogieron fueron divididas en hábitos higiénico-sanitarios y variables demográficas, consideradas como posibles favorecedoras del riesgo de exposición.

3.5 Operacionalización de las variables

Datos personales			
Nombre de la variable	Naturaleza	Operacionalizaciones	Mediciones
Edad	Cuantitativa discreta	Tiempo en meses o años desde nacimiento	Números absolutos, Medidas de tendencia central y de dispersión.
Sexo	Cualitativa nominal dicotómica	M (masculino) F (femenino)	Números absolutos, porcentajes
Peso	Cuantitativa continua	Medida antropométrica expresada en kilogramos	Números absolutos, porcentajes
Talla	Cuantitativa continua	Medida antropométrica expresada en centímetros	Números absolutos, porcentajes
Valoración nutricional	Cuantitativa continua	Eutrófico	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Variables sociodemográficas			
Nombre de la variable	Naturaleza	Operacionalizaciones	Mediciones
Localización de la vivienda	Cualitativa nominal dicotómica	U (urbana) R (rural)	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Factores higiénicos-dietéticos del niño			
Nombre de la variable	Naturaleza	Operacionalizaciones	Mediciones

Consumo de agua hervida	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Succión digital o del tete	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Lavado de manos después de ir al baño	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Lavado de manos antes y después de ingerir alimentos	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Lavado de frutas y verdura antes de ingerirlas	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Lactancia materna	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Procedencia del agua de consumo	Cualitativa nominal politómica	Acueducto Pozo Pipa Cisterna	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Síntomas y signos digestivos y otros			
Nombre de la variable	Naturaleza	Operacionalizaciones	Mediciones
Dolor abdominal	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.

Vómitos	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Náuseas	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Pérdida de peso	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Prurito anal	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Pérdida del apetito	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Fatiga	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Flatulencia	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Fiebre	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Ronchas	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Cefalea	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.

Diarreas	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Características de las diarreas			
Nombre de la variable	Naturaleza	Operacionalizaciones	Mediciones
Duración (No. de días)	Cuantitativa discreta	Medida expresada en número de días	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Frecuencia (No. de diarreas en 24 h)	Cuantitativa discreta	Medida expresada en número de diarreas	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Tratamiento antiparasitario o antimicrobiano	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Tratamiento antiviral	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Relacionadas con el examen macroscópico			
Consistencia de las heces	Cualitativa nominal politómica	Semipastosa Semilíquida Líquida	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Color de las heces	Cualitativa nominal politómica	Amarillo-marrón Rojo-marrón Amarrillentas Verdosa Negruzca	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Presencia de sangre en las heces	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.

Presencia de mucus en las heces	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Presencia de restos alimentarios en las heces	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Presencia de helmintos adultos en las heces	Cualitativa nominal dicotómica	Sí No	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.
Relacionadas con el examen microscópico			
Nombre de la variable	Naturaleza	Operacionalizaciones	Mediciones
Parásitos	Cualitativa nominal politómica	<i>Trichuris trichiura</i> <i>Enterobius vermicularis</i> <i>Ascaris lumbricoides</i> <i>Hymenolepis nana</i> <i>H. diminuta</i> <i>Entamoeba coli</i> , <i>E. histolytica/ E.dispar</i> , <i>Taenia</i> spp. <i>Giardia lamblia</i> <i>Blastocystis</i> spp. Ancylostomídeos <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Cryptosporidium</i> spp. <i>Cyclospora cayetanensis</i> , <i>Cystoisospora belli</i>	Números absolutos, porcentajes, tasas específicas.

3.6 Análisis estadístico

Los datos fueron almacenados y procesados en el paquete de programas EPINFO versión 6,02. Para las variables cualitativas se emplearon tablas de frecuencia y para las cuantitativas se calcularon medidas de tendencia central (medias) y de dispersión (Desviación estándar). Para el análisis de las variables cualitativas se realizaron pruebas de comparación de proporciones, test χ^2 de Independencia y la prueba exacta de Fisher si la frecuencia esperada de al menos una celda fuera menor de 5. Se crearon tablas de contingencia con el fin de analizar los factores de riesgo, mediante el cálculo de la oportunidad relativa o razón de los productos cruzados (OR), teniendo en cuenta los intervalos de confianza al 95%. Para las variables cuantitativas se hicieron pruebas de normalidad y en dependencia de los resultados se usaron pruebas paramétricas o no, para comparar los valores de tendencia central entre 2 o más grupos. Para comparar la sensibilidad de la PCR en tiempo real con el examen coproparasitológico para el diagnóstico *G. lamblia* se utilizó el índice de *kappa*. Los análisis se desarrollaron indistintamente según el caso empleando los paquetes de programas para análisis estadísticos GraphPadPrism versión 5.01 para Windows24, SPSS versión 10.0.1 para Windows25, y EPIINFO, versión 6.0426 y Epidat (Dean et al., 1994; Bryman, 2001).

3.7 Aspectos éticos

El protocolo se aprobó por el Comité de Ética del IPK (CEI-IPK) y del HPD-WS (CEI-IPK-37-23). Se cumplieron los criterios de la Declaración de Helsinki y los expuestos en las guías operacionales para los Comités de Ética que revisan investigación biomédica (WHO, 2000). Todos los niños infectados por protozoos o helmintos de importancia médica fueron tratados con fármacos antiparasitarios de elección por los médicos especialistas en Parasitología y/o Pediatras según esquemas terapéuticos previamente establecidos. A todos los casos infectados por parásitos de importancia médica se les realizó un seguimiento post tratamiento para verificar la cura parasitológica mediante el análisis de muestras de heces, una semana después de finalizado el tratamiento.

IV. Resultados

IV. Resultados

En el periodo de estudio, fueron atendidos 113 pacientes pediátricos ingresados por diarreas, todos en edad preescolar (hasta 5 años). La edad media fue 1,86 años (DS±1,76 años) con una población que osciló entre 0 y 5 años. De hecho, 35 de ellos fueron lactantes (31%), y la mayoría (75), tenían 2 años o menos (66,4%).

En total 56 niños (49,6%; IC al 95%: 39,9-59,2) estuvieron infectados con parásitos de importancia médica. En la Tabla 1 se exponen las principales especies de parásitos intestinales diagnosticadas en el periodo de estudio. En general, casi 50% de los niños con cuadros diarreicos estuvieron infectados por algún parásito de importancia médica. Al analizar la frecuencia por parásitos intestinales en niños ingresados con diarreas, el protozoo más frecuente fue *Entamoeba histolytica/E. dispar* (23,0%), seguido en orden de frecuencia por *Blastocystis* spp. (17,7%) y *Giardia lamblia* (8,9%). En el caso de los helmintos solo fue diagnosticado un solo caso y correspondió a *Enterobius vermicularis*.

Tabla 1. Frecuencia por parásitos intestinales en niños ingresados con diarreas en el Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, entre abril y diciembre de 2022.

Especies	Frecuencia		IC al 95 %
	(n=113)		
	No.	(%)	
Protozoos			
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	26	(23,00)	14,81-31,21
<i>Blastocystis</i> spp.	20	(17,70)	10,22-25,18
<i>Giardia lamblia</i>	10	(8,85)	3,17-14,53
<i>Cryptosporidium</i> spp.	1	(0,88)	0,02- 4,83
<i>Entamoeba coli</i> ^a	1	(0,88)	0,02- 4,83
Helmintos			
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	(0,88)	0,02- 4,83

^a Comensal

Al comparar las medianas de las edades de los niños con diarreas infectados por las diferentes especies de protozoos de importancia médica, no se encontraron diferencias entre las medianas de las edades (Kruskall Wallis, $P>0,05$) (Tabla 2).

Tabla 2. Prevalencia de protozoos intestinales patógenos según la edad en niños ingresados con diarreas en el Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, entre abril a diciembre de 2022.

Especies	Prevalencia		Edad en años cumplidos
	(n=113)		
	No.	(%)	Mediana (Intervalo)
Protozoos			
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	26	(23,00)	1,5 (0-9) ^a
	20	(17,70)	2,0 (0-4) ^a
Blastocystis spp.			
<i>Giardia lamblia</i>	10	(8,85)	2,5 (0-4) ^a
<i>Cryptosporidium spp.</i>	1	(0,88)	3

^a Kruskal Wallis test, $P=0,43$.

Al analizar la relación entre las variables clínicas encuestadas y la prevalencia por especies de protozoos intestinales patógenos encontradas en los niños se obtuvo que los síntomas más frecuentes acompañando el cuadro diarreico, fueron el dolor abdominal (8,6%), y los vómitos (5,7%). Estos fueron seguidos en menor frecuencia por la fiebre (2,9%) y la pérdida de apetito (2,9%). Es de destacar que al comparar los infectados con protozoos con los negativos a estas infecciones no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos para todos estos síntomas ($P>0,05$). El resto de los síntomas y signos analizados, no se encontraron en esta población pediátrica.

Al ser las frecuencias tan bajas no se encontraron diferencias estadísticas entre las diferentes especies de protozoos para cada una de las características analizadas; sin embargo, se observó una mayor frecuencia de mucus en los pacientes con diarreas parasitados con *Entamoeba histolytica/E. dispar* (Tabla 3).

Tabla 3. Relación entre la prevalencia por parásitos intestinales y algunas características clínicas en niños ingresados con diarreas en el Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, entre abril y diciembre de 2022.

Especies	Presencia de Mucus		Presencia de sangre		Deshidratación	
	No.	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	26	3 (11,53)	1 (3,85)	20 (76,92)		
<i>Blastocystis spp.</i>	20	1 (5,00)	1 (5,00)	17 (94,44)		
<i>Giardia lamblia</i>	10	0 (0)	0 (0)	9 (85,00)		
<i>Cryptosporidium spp.</i>	1	0 (0)	0 (0)	1 (100)		
Valor de P		P= 0,46	P=0,76	P=0,24		

En la tabla 4 al realizar la comparación de la duración y la frecuencia de las diarreas en días en los niños infectados por diferentes especies de protozoos intestinales no se observaron diferencias en la duración de la diarrea entre las infecciones con *E. histolytica/E. dispar*, *Blastocystis spp.* y *Giardia lamblia* (Kruskal Wallis, $P>0,05$). En la misma tabla, se encontró que la frecuencia de las diarreas en 24 horas, fue diferente al comparar la encontrada en *Giardia lamblia*, con *Entamoeba histolytica/ E. dispar* y con *Blastocystis spp.* (Anova, $P<0,05$). El pos test de comparaciones múltiples de Tukey demostró que no hubo diferencias en las frecuencias entre *E. histolytica/E. dispar* y *Blastocystis* ($P>0,05$). Sin embargo, este mismo test demostró que cada una de estas especies por separado tuvieron una frecuencia mayor que con *Giardia lamblia* ($P<0,05$).

Tabla 4. Comparación de la duración y la frecuencia de las diarreas en los infectados por diferentes especies de protozoos intestinales.

Especies	Prevalencia (n=113)		Duración (Días)	Frecuencia (24 horas)
	No.	(%)	Mediana (Intervalo)	Media (±DS)
Protozoos				
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	26	(23,00)	4 (2-15) *	11,88 (±4,80) **
<i>Blastocystis spp.</i>	20	(15,90)	2 (0-4) *	1,85 (±1,46) **
<i>Giardia lamblia</i>	10	(8,85)	5 (4-8) *	18,1 (±0,06) **
<i>Cryptosporidium spp.</i>	1	(0,88)	4	14

* Análisis comparativo de las medianas (Kruskal Wallis, $P=0,80$).

** Análisis comparativo de las medias (Anova, $P=0,01$).

Al relacionar los malos hábitos higiénicos sanitarios con la prevalencia por protozoos intestinales en los niños ingresados con diarreas en el mismo hospital (Tabla 5), no se encontró asociado ninguno de los factores evaluados, excepto el no consumo de agua hervida, donde el riesgo de infección con protozoos intestinales fue mayor que en los que no consumían agua hervida ($P<0,05$).

Tabla 5. R Relación entre hábitos higiénicos sanitarios y la prevalencia por especies de protozoos intestinales en niños ingresados con diarreas en el Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, entre abril y diciembre de 2022.

Hábitos higiénicos sanitarios	Infectados		RP (IC al 95%); Valor de P
	con especies de protozoos	Negativos	
	No. (%)	No. (%)	
No consumo de agua hervida (n=48)	26 (54,16)	22 (45,83)	0,59 (0,42-0,84); P=0,01*
Consumo de agua hervida (n=65)	29 (44,62)	36 (55,38)	
Succión digital o del tete (n=63)	28 (44,44)	35 (55,55)	0,82 (0,56-1,20); P=0,41
No succión digital o del tete (n=50)	27 (54)	23 (46)	
No lavado de las manos después de ir al baño (n=109)	51 (46,79)	58 (53,21)	Prueba exacta de Fisher, P=0,19
Lavado de las manos después de ir al baño (n=4)	4 (1)	0 (0)	
No lavado de las manos antes y después de los alimentos (n=110)	52 (47,27)	58 (52,73)	Prueba exacta de Fisher, P=0,35
Lavado de las manos antes y después de los alimentos (n=3)	3 (1)	0 (0)	
Con Lactancia materna (n=63)	33 (52,38)	30(47,62)	0,80 (0,80-1,76); P=0,49
Sin lactancia materna(n=50)	22 (44)	28(56)	

Al analizar el riesgo de la ruralidad y la prevalencia por especies de protozoos intestinales en niños ingresados con diarreas en el hospital William Soler” (Tabla 6), se observó que el

riesgo de infección con protozoos intestinales fue mayor en los que vivían en el área rural ($P < 0,05$).

Tabla 6. Riesgo de la ruralidad y prevalencia por especies de protozoos intestinales en niños ingresados con diarreas en el Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, entre abril y diciembre de 2022.

Localización de la Vivienda	Infectados con especies de protozoos patógenos (n=55)		Negativos (n=58)	RP (IC al 95%); Valor de P
	No. (%)	No. (%)		
Área Rural	33 (60,0)	48 (82,75)		0,59 (0,42-0,84);
Área Urbana	22 (40,00)	10 (17,24)		P=0,01

Al evaluar el desempeño del PCR en tiempo real para *Giardia* utilizando el examen coproparasitológico como técnica de referencia (Tabla 7), se encontró que la prueba de diagnóstico molecular mostró elevados valores de sensibilidad y especificidad, y un alto valor predictivo para los negativos. Sin embargo, el valor predictivo para los positivos fue bajo (23,53 %; IC al 95%: 7,80-39,26%). En la misma tabla, al evaluar el desempeño del examen coproparasitológico para *Giardia* usando el PCR en tiempo real como técnica de referencia para el diagnóstico de *Giardia*, el examen parasitológico se mostró una alta especificidad, con buenos valores predictivos para los positivos y para los negativos. Sin embargo, su sensibilidad fue baja comparada con la PCR en tiempo real. Finalmente, al evaluar la concordancia entre el examen coproparasitológico y la PCR en Tiempo real para el diagnóstico *Giardia*, mediante el uso del índice de Concordancia (kappa) (Tabla 7), se obtuvo un índice de Kappa de 0,26.

Tabla 7. Evaluación del desempeño del test parasitológico y molecular, e índice de Concordancia (kappa), para el diagnóstico de *Giardia* en niños ingresados con diarreas en el Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, abril y diciembre de 2022

Técnicas	Técnica coproparasitológica para <i>Giardia</i> (Técnica de Referencia)	
	Positivos a <i>Giardia</i>	Negativos
PCR para diagnosticar <i>Giardia</i>	8	26
	2	77

Parámetro Valor en Porcentaje (IC al 95%)
 Sensibilidad: 80,00 % (50,21-100)
 Especificidad: 74,76 % (65,88-83,68)
 Valor predictivo para los positivos: 23,53 % (7,80-39,26)
 Valor predictivo para los negativos: 97,42 (93,37-100)
 Índice de Kappa: 0,2628(IC al 95%: 0,089-0,431)

V. Discusión

V. Discusión

Las EDA siguen siendo una de las principales causas de enfermedad y muerte en los niños menores de cinco años en los países en vías de desarrollo. De hecho, las enfermedades diarreicas pediátricas todavía representan más de 800 000 muertes anuales en todo el mundo, lo que representa 11% de los 7,6 millones de muertes infantiles anuales estimadas en el mundo (Melene *et al.*, 2023). Sin embargo, una revisión de estudios de las últimas dos décadas sugiere que la mortalidad por diarrea ha ido disminuyendo constantemente en todo el mundo, debido principalmente a la implementación de programas de control eficaces y a una mejor situación socioeconómica (Khurana *et al.*, 2021).

La diarrea puede ser causada por varios agentes etiológicos infecciosos, incluidos virus, bacterias, protozoos y helmintos (Mekonnen *et al.*, 2019). No obstante, los agentes epidemiológicos, etiológicos y factores de riesgo de la diarrea varían mucho según el país, la región y la comunidad, por lo que su conocimiento es esencial para informar los programas de prevención y control (Melese *et al.*, 2023).

Aunque tradicionalmente la diarrea causada por protozoos intestinales se considera menos prevalente que las causadas por virus y bacterias, investigaciones recientes han demostrado que patógenos como *Cryptosporidium* spp., representa la segunda causa más importante de gastroenteritis y muertes en bebés y niños pequeños. De hecho, alrededor 100.000 muertes por gastroenteritis en todo el mundo son atribuible a especies de protozoos (Karakuş *et al.*, 2022).

Los parásitos intestinales son las infecciones más prevalentes entre los niños de familias pobres y rurales, a nivel mundial. Los niños menores de cinco años son el grupo más vulnerable debido a la inmadurez de su sistema inmune (Melese *et al.*, 2023). Por lo tanto, necesitan cuidados y seguimiento especiales. A pesar de la existencia de diferentes estrategias de prevención como la quimioterapia y la promoción de la salud, los parásitos intestinales constituyen aún un problema ampliamente extendido en el mundo (Özkan-Ahmetoğlu *et al.*, 2023).

Según un informe de Instituto de Medicina Tropical de Base, en Suiza de 2022, aproximadamente 3 500 millones de personas están expuestas a infecciones parasitarias intestinales y más de la mitad de ellas son niños (Melese *et al.*, 2023). Según cifras de la

OMS, más de 270 millones de niños en edad preescolar y más de 600 millones de niños viven en zonas donde los parásitos se transmiten intensamente. Ejemplo de ello lo constituyen estudios desarrollados en varias partes del mundo en donde se reportaron tasas de prevalencia variadas, por ejemplo, en Arabia Saudita, 28,7%, Palestina, 27,3%, 48% en Sudán, 20 y 19% en Etiopía (Melese *et al.*, 2023).

En Cuba existen varios estudios epidemiológicos que se han desarrollado para determinar la prevalencia de parásitos intestinales en niños preescolares. Por ejemplo, un estudio desarrollado en niños preescolares en Matanzas mostró una frecuencia de infección por parásitos intestinales de 71,1% (Cañete *et al.*, 2012). No obstante, otros estudios han mostrado una menor frecuencia de infección por parásitos intestinales en este mismo grupo de edad, como los desarrollados en Matanzas por Alpízar-Navarro *et al.*, (2018) quienes reportaron una prevalencia de 48,9% y el de Coca *et al.*, (2013) quienes reportaron en niños preescolares una baja tasa de infección parasitaria de tan solo 4,4%. No obstante, son escasos los estudios que se han desarrollado en unidades cerradas, como hospitales pediátricos para conocer la contribución de las especies de parásitos intestinales en el amplio espectro de la diarrea infecciosa.

En este marco, el estudio desarrollado por Núñez *et al.* (2003) en 401 niños ingresados en el Hospital Universitario Pediátrico del Cerro, la prevalencia de parasitismo intestinal fue de 15 % y no se encontraron diferencias entre el estrato de niños ingresados en Gastroenterología con el resto de los servicios en cuanto a comensales y parásitos en general. Los coccidios intestinales, *Cryptosporidium parvum* y *Cyclospora cayetanensis* predominaron en los niños infectados por parásitos intestinales (Núñez *et al.*, 2003).

En el año 2012 en un estudio realizado en el Hospital Pediátrico Docente "William Soler" en 452 niños sintomáticos, de ellos, 154 menores de cinco años, se evidenció en este último grupo que *Giardia lamblia* fue la especie más prevalente (12,5%) (Jerez Puebla *et al.*, 2014). Otra investigación de tipo descriptivo y de corte transversal, desarrollada recientemente por Aleaga *et al.* (2019) en 421 niños que acudieron a consultas externas del Hospital Pediátrico "Juan Manuel Márquez" evidenció que el patógeno más frecuente fue *Blastocystis* spp. con una prevalencia de 24,7% (Aleaga *et al.*, 2019).

En esta investigación en 113 niños con cuadros diarreicos, sin embargo, se reportó a la infección por el complejo *Entamoeba histolytica/E. dispar* como la más prevalente en los

niños estudiados con (23%), seguido en orden de frecuencia por *Blastocystis* spp. (17,7%) y *G. lamblia* (8,9%). Este resultado es semejante a lo reportado en un estudio reciente por Dhubyan y Mohammed (2022) en 2296 niños iraquíes atendidos en un hospital pediátrico identificó al complejo *E. histolytica/dispar* como la más prevalente (13,2%), seguida por *G. lamblia* (10%) (Dhubyan y Mohammed, 2022). Otro estudio desarrollado en Arabia Saudita en el año 2013 en 600 niños con gastroenteritis, igualmente reportó al complejo *Entamoeba histolytica/E. dispar* como la especie más prevalente (Hegazi *et al.*, 2013).

En la investigación no se encontraron diferencias significativas entre la especie infectante y las medianas de las edades de los pacientes ingresados, resultado esperado, si se tiene en cuenta, que el estudio abarcó sólo pacientes preescolares, y no contó con otros grupos de edades para poder hacer comparaciones. No obstante, en otros estudios descriptivos observacionales llevados a cabo en hospitales pediátricos, como el realizado por Hegazi *et al.*, (2013), demostró una asociación de la infección con *E. histolytica/dispar* y los niños menores de un año de edad (Hegazi *et al.*, 2013). De igual forma hubo una asociación estadística entre la infección por *E. histolytica/dispar* y los niños menores de un año en el reporte realizado por Dhubyan y Mohammed (2022).

En cuanto a los síntomas clínicos, acompañando el cuadro diarreico fueron los más frecuentes el dolor abdominal, y los vómitos, lo que están descritos con una mayor asociación en el síndrome diarreico (Melese *et al.*, 2023). Es de destacar que la fiebre, se encontró en un solo caso en el grupo de los infectados con protozoos, mientras que cinco casos del grupo de los no infectados con protozoos presentaron fiebre, lo que pudiera indicar una posible etiología bacteriana o viral. En términos generales se reconoce que en niños que presenten diarrea, dolor abdominal y náuseas, siempre debe ser evaluado para descartar una infección por parásitos intestinales (Karakuş *et al.*, 2022).

Es conocido que, en la diarrea invasiva aguda, el patógeno penetra en las células epiteliales de la mucosa intestinal. Los síntomas se producen por uno o más de los siguientes mecanismos: producción de enterotoxinas, aumento de la síntesis de prostaglandinas y alteración de la reabsorción de líquidos y electrolitos. El proceso invasivo a menudo resulta en disentería, que se caracteriza por heces acuosas que contienen sangre y mucus, acompañadas de calambres, ardor rectal, fiebre y, a veces, toxicidad (Guerrero, 1989; Khurana *et al.*, 2021). La presencia de mucus fue una característica clínica que se identificó

con mayor frecuencia en los niños con diarrea, principalmente infectados por *Entamoeba histolytica*/*E. dispar*, aunque no fue estadísticamente significativo.

La infección del colon humano por *E. histolytica* produce ulceración focal de la mucosa intestinal, lo que resulta en disentería (diarrea con sangre y mucus). Los mecanismos básicos implicados en la producción de lesiones líticas focales incluyen procesos multifactoriales complejos en los que las lectinas facilitan la adhesión, las proteasas degradan los componentes de la matriz extracelular; las porinas ayudan a eliminar los leucocitos polimorfonucleares entrantes y macrófagos y el parásito utiliza la motilidad para invadir capas más profundas del colon (Den Broucke *et al.*, 2018).

Aunque la duración de las diarreas fue similar en las infecciones con las diferentes especies de protozoos intestinales, se encontraron diferencias en las frecuencias diarias de las diarreas siendo mayores en *G. lamblia* y *Cryptosporidium* spp., protozoos que se asocian más a diarrea persistente o crónica (Melese *et al.*, 2019). Un estudio de revisión sistemática sobre la morbilidad y la mortalidad de la diarrea persistente (de más de 14 días de duración) se llevó a cabo a partir de investigaciones realizadas en varias áreas geográficas (Bangladesh, Brasil, Etiopía, India, Indonesia y Perú), donde evidencian que la diarrea precipita y exacerba la desnutrición, mientras que la desnutrición predispone a la diarrea. En esta revisión se reconoce a *G. lamblia* y *Cryptosporidium* spp, como uno de los principales agentes de diarrea persistente junto a cepas de *Escherichia coli* enteroagregativas, *Shigella*, *Salmonella*, y *E. coli* enteropatógenicas (Oppong *et al.*, 2020).

Entre los hábitos higiénicos sanitarios inadecuados que se evaluaron, el no consumir agua hervida y vivir en zona rural, constituyeron importantes factores de riesgo para la infección con protozoos intestinales. Investigaciones epidemiológicas desarrolladas han demostrado que regiones donde el suministro de agua es escaso, el contacto con niños pequeños, y el contacto con animales domésticos y de granjas, resultan importantes factores de riesgo asociados con la infección por parásitos intestinales (Rivero *et al.*, 2017). Otros factores importantes que facilitan la emergencia de la infección de estos protozoos son: el fecalismo al aire libre, educación higiénico sanitaria inadecuada, hacinamiento y aumento de la densidad poblacional y reservorios animales de la infección (Lee *et al.*, 2017).

Estos resultados coinciden con otros reportados en la literatura internacional, como el estudio llevado a cabo por Alsubaie *et al.*, (2016) en donde identificaron a la infección por *G. lamblia*

y *E. histolytica/dispar* con un mayor riesgo de infección en niños que tomaban agua sin hervir. De igual forma, en un estudio desarrollado en niños paquistanés se identificó un mayor riesgo de infección con *G. lamblia* y *Blastocystis* spp. en niños con poca higiene personal, y que tomaban agua sin hervir (Mehraj *et al.*, 2008).

En nuestro país, estos mismos factores de riesgos fueron identificados en los estudios desarrollados en los Hospitales Pediátricos del Cerro y William Soler (Núñez *et al.*, 2003; Jerez Puebla *et al.*, 2014). Es bien conocido que los residentes en zonas rurales pueden ser más frecuentemente parasitados que los del ámbito urbano, lo que pudiera explicarse debido al entorno ecológico (Núñez *et al.*, 2003). Es importante resaltar que, en la transmisión de las parasitosis intestinales, el agua puede ser muy importante, como vehículo principal de la transmisión, especialmente para los enteropatógenos que no requieren de ciclos de maduración en el suelo u hospederos intermediarios, como es en el caso específico de los comensales y protozoos intestinales patógenos.

En las últimas décadas se han desarrollado métodos basados en ácidos nucleicos para el diagnóstico de infecciones parasitarias intestinales. Las ventajas de los métodos basados en ácidos nucleicos son numerosas; normalmente, estos incluyen una mayor sensibilidad y especificidad y una estandarización más simple de los procedimientos de diagnóstico. Las muestras de ADN también se pueden almacenar y utilizar para la caracterización genética y la tipificación molecular, lo que proporciona una herramienta valiosa para encuestas y estudios de vigilancia (Verweij y Stensvold, 2014).

Durante los últimos 15 a 20 años, muchos laboratorios de microbiología clínica han contado con instalaciones para realizar diagnósticos moleculares. Además, los avances técnicos, especialmente la introducción de la PCR en tiempo real, han superado muchos de los inconvenientes de la PCR de los primeros años, como el riesgo de contaminación de los productos amplificados. Además, la implementación de métodos automatizados de aislamiento de ADN/ARN ha hecho posible utilizar técnicas de detección basadas en ácidos nucleicos en un formato de alto rendimiento (Verweij y Stensvold, 2014).

La microscopía convencional sigue siendo el procedimiento diagnóstico de primera línea en la mayoría de los laboratorios de Parasitología clínica. La ventaja de un análisis microscópico directo en el cual se pueden observar diferentes parásitos y/o estadios de los mismos en una sola muestra, ha superado durante muchos años las limitaciones, es decir, la baja sensibilidad

y la necesidad de procedimientos de tinción y concentración para detectar determinadas especies de parásitos. Sin embargo, el aumento de los costes laborales, incluido la necesidad de formación continua, en combinación con el bajo rendimiento de casos positivos para parásitos y, por lo tanto, el requisito de examinar muestras múltiples ha hecho que la microscopía sea costosa en el mundo y se combine con métodos moleculares para aumentar la sensibilidad de las técnicas diagnósticas (Lieshout y Roestenberg, 2015).

En esta investigación se utilizó como técnica complementaria para el diagnóstico de *G. lamblia*, la PCR en tiempo Real. La concordancia de los resultados mediante la microscopía y la PCR se realizó mediante el coeficiente de concordancia kappa de Cohen, el cual permite cuantificar el grado de acuerdo entre dos o más observadores una vez que se ha eliminado el efecto del azar. Este índice es muy intuitivo y fácilmente interpretable, en general tomará valores entre 0 (total desacuerdo) y 1 (máximo acuerdo). Al valorar la concordancia entre el examen coproparasitológico y el PCR en Tiempo real para el diagnóstico *Giardia* se obtuvo un índice de acuerdo que es considerado como regular o mediano, según lo propuesto por Landis y Koch (1977).

Para poder evaluar el desempeño del examen coproparasitológico se hizo una cuantificación (estimación, en rigor) de la magnitud de los errores que pueden cometerse, o su inverso, la magnitud de los aciertos que se cometen al intentar "adivinar" un diagnóstico a partir de los resultados que brinde dicho procedimiento. La sensibilidad y la especificidad, son los indicadores estadísticos tradicionales y básicos que evalúan el grado de eficacia inherente a una prueba diagnóstica. Estos índices miden la discriminación diagnóstica de una prueba con relación a un criterio de referencia, que se considera la verdad. La sensibilidad indica la capacidad de la prueba para detectar a un sujeto enfermo o infectado, mientras que la especificidad indica la capacidad que tiene la prueba de identificar como infectados a los que efectivamente lo son (Buczinski *et al.*, 2023).

Cuando se tomó al examen coproparasitológico como técnica de referencia, se encontraron buenos valores de sensibilidad y especificidad. Sin embargo, cuando se evaluó, el desempeño del examen coproparasitológico para *Giardia* usando la PCR en tiempo real como técnica de referencia el examen parasitológico mostró una sensibilidad baja comparada con la PCR en tiempo real como técnica de referencia, este resultado está muy relacionado con el hecho de que el método a evaluar fue el de examen directo, no se emplearon técnicas de concentración,

ni tampoco se recogió más de una muestra por individuo, dando una cifra menor de positivos con este procedimiento. Además de la evidente mayor sensibilidad del método molecular. Para conocer la probabilidad de que un individuo para el que se haya obtenido un resultado positivo, esté efectivamente parasitado; y lo contrario, conocer la probabilidad de que un individuo con un resultado negativo esté efectivamente negativo de la infección, se usan medidas o indicadores que responden a estas interrogantes, las que se conocen como valores predictivos. El valor predictivo de una prueba positiva equivale a la probabilidad condicional de que los individuos con una prueba positiva tengan realmente la enfermedad o infección, mientras que el valor predictivo de una prueba negativa es la probabilidad condicional de que los individuos con una prueba negativa no tengan realmente la enfermedad o infección (Bullen, 2020).

Cuando se evaluó el desempeño del PCR en tiempo real para *G. lamblia* usando el examen coproparasitológico como técnica de referencia para el diagnóstico de *Giardia* se halló que el valor predictivo para los positivos fue bajo; en otras palabras, la probabilidad condicional de que los individuos con una prueba positiva tuvieran la enfermedad o infección fue bajo, algo de esperar porque el examen directo mostró una menor capacidad para detectar casos positivos que la técnica molecular.

El índice de Youden, es una medida conjunta de eficiencia de un medio diagnóstico fue propuesta por W.J. Youden en 1950. Este índice refleja la diferencia entre la tasa de verdaderos positivos y la de falsos positivos. Un buen test debe tener alta esta diferencia. Teóricamente es igual a 1 sólo cuando la prueba diagnóstica es perfecta, o sea, cuando se suma Sensibilidad + Especificidad es igual a 2, de modo que también puede decirse que cuánto más cercano a 1, mejor es la prueba diagnóstica que se está evaluando. Este índice tiene la ventaja de no estar afectado por la selección de la prevalencia, y es preferido por la combinación de los sencillos valores de la sensibilidad y la especificidad (Smith, 2010; Attwood y Tian, 2022).

En resumen, estos resultados demuestran la importancia de los agentes parasitarios, en especial de los protozoos como agentes causales asociados en niños lactantes y preescolares ingresados con diarreas; también demuestran algunas de sus principales características clínicas y la contribución relativa de algunos factores de riesgo como el consumo de agua de calidad sanitaria dudosa, y la ruralidad para estas infecciones. Finalmente, se evaluó un PCR

en Tiempo real para el diagnóstico de *Giardia*, aplicado en las heces de estos niños ingresados con diarreas y se determinó su contribución y utilidad para este tipo de diagnóstico.

VI. Conclusiones

VI. Conclusiones

1. Se evidenció una alta frecuencia de parásitos intestinales en general, en niños con diarrea, indicando su relación con el cuadro infeccioso para las especies *Entamoeba histolytica/dispar*, *Blastocystis* spp y *G. lamblia*, principalmente.
2. No se identificó una relación directa entre las especies de parásitos intestinales infectantes y la sintomatología causada en niños con diarrea, lo que evidencia el cuadro clínico semejante que se desarrolla, con excepción de la diarrea persistente causada por *G. lamblia*.
3. Se demostró una mayor frecuencia de infección por parásitos intestinales en niños que no consumían agua hervida y en los niños que residían en área rural, lo que potencia a estos factores de riesgo como favorecedores del desarrollo de infecciones parasitarias intestinales.
4. Se evidenció que el diagnóstico molecular de *G. lamblia* fue superior a los métodos convencionales en niños con enfermedad diarreica aguda, lo que potencia la sensibilidad diagnóstica en su conjunto.

VII.

Recomendaciones

VII. Recomendaciones:

- ❖ Informar los resultados obtenidos al Departamento de Pediatría del Minsap, y recomendar la realización de estudios multicéntricos que contengan la detección conjunta de patógenos bacterianos, virales y parasitarios.
- ❖ Implementar la detección molecular de protozoos intestinales de importancia médica mediante un panel múltiple de PCR en tiempo Real.
- ❖ Fomentar campañas educativas para la prevención de las parasitosis intestinales dirigidas a los niños y sus padres con el fin de aumentar la percepción de riesgo y el conocimiento sobre estas enfermedades.

VIII. Referencias Bibliográficas

VIII. Referencias bibliográficas

- Abe N, Nagoshi M, Takami K, Sawano Y, Yoshikawa H. A survey of *Blastocystis* sp. in livestock, pets, and zoo animals in Japan. *Vet Parasitol* 2015; 106: 203–212.
- Afolabi MO, Adebisi A, Cano J, Sartorius B, Greenwood B, Johnson O, Wariri O. Prevalence and distribution pattern of malaria and soil-transmitted helminth co-endemicity in sub-Saharan Africa, 2000-2018: A geospatial analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2022; 16(9): e0010321.
- Aleaga SY, Domenech CI, González RZ, Martínez IA, Martínez MF, *Blastocystis* spp. y otros enteropatógenos en pacientes atendido en el hospital "Juan Manuel Márquez", *Panorama Cuba y Salud* 2019; 14: 29-33.
- Alfellani MA, Jacob AS, Perea NO, Kreckec RC, Taner-Mulla D, Verweij JJ, *et al.* Diversity and distribution of *Blastocystis* sp. subtypes in non-human primates. *Parasitol*. 2013; 140(8):966-71.
- Alpízar Navarro J, Cañete Villafranca R, Mora Alpízar del CM, Cabrera Hernández SV, Zuñiga Piloto I. Parasitismo intestinal en niños de círculos infantiles de un Consejo popular. Matanzas. 2014–2015. *Rev Méd Electrón*. 2018; 40: 2-11.
- Alsubaie AA, Azazy AA, Omer EO, Al-shibani LA, Al-Mekhlafi AQ, Al-Khawlani FA. Pattern of parasitic infections as public health problem among school children: A comparative study between rural and urban areas. *J Taibah Univ Med Sci*. 2016; 1: 13-18.
- Álvarez D. Parasitismo intestinal en la Isla de la Juventud [Trabajo para optar por el título de Especialista de I Grado en Microbiología]. Ciudad de La Habana: Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”; 1999.
- Arencibia AA. Prevalencia de parásitos intestinales en niños de una escuela primaria de Ciudad de La Habana [Trabajo para optar por el título de Especialista de I Grado en Microbiología]. Ciudad de La Habana: Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”; 2000.
- Argüello-García R, Leitsch D, Skinner-Adams T, Ortega-Pierres MG. Drug resistance in *Giardia*: Mechanisms and alternative treatments for Giardiasis. *Adv Parasitol*. 2020; 107:201-282.

- Ataş AD. The Distribution of Pathogenic Intestinal Parasites in Sivas Cumhuriyet University Faculty of Medicine research and application hospital between 2006-2018. *Turkiye Parazitol Derg.* 2020; 44:25-30.
- Attwood K, Tian L. Confidence Interval Estimation of the Youden index and corresponding cut-point for a combination of biomarkers under normality. *Commun Stat Theory Methods.* 2022; 51(2): 501–518).
- Betts EL, Gentekaki E, Tsaousis AD. Exploring Micro-Eukaryotic Diversity in the Gut: co-occurrence of *Blastocystis* subtypes and other protists in Zoo Animals. *Front Microbiol.* 2020; 11:288.
- Boltena MT, El-Khatib Z, Sahlemichael Kebede A, Asamoah BO, Tadesse Boltena A, Yeshambaw M, Biru M. Comorbidity of geo-helminthes among malaria outpatients of the health facilities in Ethiopia: systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health.* 2021; 18(3):862.
- Bryman A. *Quantitative Data Analysis with SPSS release 10 for Windows.* London: Routledge; 2001.
- Buczinski S, Dufour S, Arango-Sabogal JF. Interpretation and analysis of individual diagnostic tests and performance. *Vet Clin Food Anim* 2023; 39: 1–19.
- Bullen JA. Studies of medical tests. design and analytical considerations. *CHEST* 2020; 158: 103-112.
- Bundy DA. Control of intestinal nematode infections by chemotherapy: mass treatment versus diagnostic screening. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1990; 84:622-5.
- Cañete R, Díaz MM, Avalos García R, Laúd Martínez PM, Manuel Ponce F. Intestinal parasites in children from a day care centre in Matanzas City, Cuba. *PLoS One.* 2012; 7: e51394.
- Castañeda S, Muñoz M, Villamizar X, Hernández PC, Vásquez LR, Tito RY, Ramírez JD. Microbiota characterization in *Blastocystis*-colonized and *Blastocystis*-free school-age children from Colombia. *Parasit Vectors.* 2020; 13: 521.
- Claudine U, Kim JY, Kim EM, Yong TS. Association between sociodemographic factors and diarrhea in children under 5 years in Rwanda. *Korean J Parasitol.* 2021; 59: 61-65.

- Coca LR, Suarez DM, Álvarez G. Parasitismo intestinal en niños de círculo infantil. Rev Cub Tec Sld. 2013; 22: 9-13.
- Coronato Nunes B, Pavan MG, Jaeger LH, Monteiro KJ, Xavier SC, Monteiro FA. Spatial and molecular epidemiology of *Giardia intestinalis* deep in the amazon, Brazil. PLoS One. 2016; 11: e0158805.
- Dacal, E., Köster, P. C., & Carmena, D. (2020). Diagnóstico molecular de parasitosis intestinales. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 38(Supl 1), 24–31.
- Davis EL, Danon L, Prada JM, Gunawardena SA, Truscott JE, Roy JM, *et al.* Seasonally timed treatment programs for *Ascaris lumbricoides* to increase impact—An investigation using mathematical models. PLoS Negl Trop Dis. 2018; 12: e0006195.
- Dean AG, Dean JA, Coulombier D, Brendel KA, Smith DC, Burton AH. Epi Info Version 6: A World Processing, Database, and Statistics Program for Epidemiology on Microcomputers. Atlanta, GA: Centers for Disease Control. 1994.
- Del Coco VF, Molina NB, Basualdo JA, Córdoba M. *Blastocystis* spp.: Advances, controversies and future challenges. Rev Argent Microbiol. 2017; 49:110-118.
- Den Broucke SV, Verschueren J, Van Esbroeck M, Bottieau E, den Ende J. Clinical and microscopic predictors of *Entamoeba histolytica* intestinal infection in travelers and migrants diagnosed with *Entamoeba histolytica/dispar* infection. PLoS Negl Trop Dis. 2018; 12: e0006892.
- Dhubyan Z, Mohammed Z. Prevalence of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* Associated with Diarrhea in Children referring to Ibn Al-Atheer Hospital in Mosul, Iraq. Arch Razi Inst. 2022; 77: 73-79.
- Escobedo AA, Almirall P, Alfonso M, Cimerman S, Rey S, Terry SL. Treatment of intestinal protozoan infections in children. Arch. Dis. Child 2009; 94:478–482.
- Fahmy MA, Abdelaal AA, Hassan SI, Shalaby MA, Ismail MAM, Khairy RA. Antiparasitic and immunomodulating effects of nitazoxanide, ivermectin and selenium on *Cryptosporidium* infection in diabetic mice. Rev Bras Parasitol Vet. 2021; 30: e012121.
- Fernández TC. Enteroparásitos en escolares de las áreas de salud Vedado y Punta Brava, Ciudad de La Habana, 2002 [Tesis para optar por el título de Especialista de I Grado en Microbiología]. Ciudad de La Habana: Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”; 2002.

- Ferrer H, Berroa del Río M, Tejeiro A, Sotolongo F, Ballester JM, Bacallao J, *et al.* Encuesta nacional de morbilidad por parasitismo intestinal en Cuba , 1973. *Rev Cub Hig Epid.* 1975;13:118-9.
- Gill N, Somayaji R, Vaughan S. Exploring Tropical Infections: A Focus on Cutaneous Larva Migrans. *Adv Skin Wound Care.* 2020; 33: 356-359.
- Girma A, Aemiro A. Prevalence and Associated risk factors of intestinal parasites and enteric bacterial infections among selected region food handlers of Ethiopia during 2014-2022: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Scientific World J.* 2022; 12:7786036.
- Gizaw Z, Addisu A, Dagne H. Effects of water, sanitation and hygiene (WASH) education on childhood intestinal parasitic infections in rural Dembiya, northwest Ethiopia: an uncontrolled before-and-after intervention study. *Environ Health Prev Med.* 2019; 24:16.
- Hajjisa K, Islam MA, Sanyang AM, Mohamed Z. Prevalence of intestinal protozoan parasites among school children in africa: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2022; 16(2): e0009971.
- Halliday KE, Oswald WE, Mcharo C, Beaumont E, Gichuki PM, Kepha S, *et al.* Community-level epidemiology of soil-transmitted helminths in the context of school-based deworming: Baseline results of a cluster randomised trial on the coast of Kenya. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019; 13:e0007427.
- Hegazi MA, Patel TA, El-Deek BS. Prevalence and characters of *Entamoeba histolytica* infection in Saudi infants and children admitted with diarrhea at 2 main hospitals at South Jeddah: a re-emerging serious infection with unusual presentation. *Braz J Infect Dis.* 2013; 17: 32-40.
- Ibrahim HS, Shehab AY, Allam AF, Mohamed MA, Farag HF, Tolba MM. Detection and molecular identification of *Cryptosporidium* species among children with malignancies. *Acta Parasitol.* 2021; 2: 377-383.
- Imam A, Farouk ZL, Hassan-Hanga F, Ihesiulor UG. A comparative cross-sectional study of prevalence and intensity of soil-transmitted helminthic infection between healthy and severe acutely malnourished pre-school aged children in Kano, Northern Nigeria. *BMC Infect Dis.* 2019; 19:121.

- Incani RN, Ferrer E, Hoek D, Ramak R, Roelfsema J, Mughini-Gras L. Diagnosis of intestinal parasites in a rural community of Venezuela: Advantages and disadvantages of using microscopy or RT-PCR. *Acta Trop.* 2017; 167:64-70.
- Iqbal M, Khan W, Khan MF, Khan I. Albendazole and mebendazole in the treatment of ancylostomiasis in school children between the ages of 6-15 in Swat, Pakistan. *J Pak Med Assoc.* 2021; 71:2058-2060.
- Jerez Puebla LE, Núñez FA, Fernández YA, Fraga J, Rivero LR, Millán IA, Valdés LA, Silva IM. Correlation of *Giardia duodenalis* assemblages with clinical and epidemiological data in Cuban children. *Infect Genet Evol.* 2014; 23:7-12.
- Jerez Puebla LE, Núñez FA, Santos LP, Rojas LR, Martínez IS, Ayllón LV, Atencio IM, Müller N. Molecular analysis of *Giardia duodenalis* isolates from symptomatic and asymptomatic children from La Habana, Cuba. *Parasite Epidemiol Control.* 2017; 2: 105–113.
- Karakuş İ, Taş Cengiz Z, Ekici A. Evaluation of intestinal parasites and some clinical symptoms in children with diarrhea. *Turkiye Parazitoloj Derg.* 2022; 46: 39-44.
- Karshima SN. Prevalence and distribution of soil-transmitted helminth infections in Nigerian children: a systematic review and meta-analysis. *Infect Dis Poverty.* 2018; 7:69.
- Khurana S, Gur R, Gupta N. Chronic diarrhea and parasitic infections: Diagnostic challenges. *Indian J Med Microbiol.* 2021; 39: 413-416.
- Kouri P. Manual de Parasitología: Helmintología Humana. Tomo III. Tercera Edición. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba 1982; 153-206.
- Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33:159-74.
- Lavin J, Pérez A, Finlay CM, Sarracent J. Parasitismo intestinal en una cohorte de escolares en 2 municipios de Ciudad de La Habana. *Rev Cub Med Trop.* 2008; 60:27-31.
- Lee SC, Ngui R, Tan TK, Roslan MA, Ithoi I, Mahdy MAK. Understanding *Giardia* infections among rural communities using the one health approach. *Acta Trop.* 2017; 176:349-354.
- Le-Sheng Z, Yan-Juan W, Jian-Ping C. Progress and application of immunodiagnostic methods of giardiasis. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi.* 2017; 29: 385-387.

- Lieshout LV, Roestenberg JM. Clinical consequences of new diagnostic tools for intestinal parasites. *Clin Microb Infect.* 2015; 6; 520-528.
- Llanio R, Fernández JE, Pérez F, Fernández JA, Pena A, Rodríguez L, et al. *Propedéutica Clínica y Fisiopatología.* La Habana: Pueblo y Educación; 1991.
- López JL, Barrero E, Núñez FA, Finlay CM, de Rojas V. Algunas características psicosociales de individuos con predisposición a *Trichuris trichiura*. *Rev Cubana Med Trop.* 1993; 45: 180-183.
- Loukas A, Hotez PJ, Diemert D, Yazdanbakhsh M, McCarthy JS, Correa-Oliveira R, et al. Hookworm infection. *Nat Rev Dis Primers.* 2016; 2:16088.
- Mac Kenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME, Gradus MS, Blair KA, Peterson DE, et al. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med.* 1994; 331:161–167.
- Mafokwane T, Djikeng A, Nesengani LT, Dewar J, Mapholi O. Gastrointestinal infection in South African children under the age of 5 years: A Mini Review. *Gastroenterol Res Pract.* 2023; 1906782.
- Masaku J, Njomo DW, Njoka A, Okoyo C, Mutungi FM, Njenga SM. Soil-transmitted helminths and schistosomiasis among pre-school age children in a rural setting of Busia County, Western Kenya: a cross-sectional study of prevalence, and associated exposures. *BMC Public Health.* 2020; 20:356.
- McCarty TR, Turkeltaub JA, Hotez PJ. Global progress towards eliminating gastrointestinal helminth infections. *Curr Opin Gastroenterol.* 2014; 30:18-24.
- Mehraj V, Hatcher J, Akhtar S, Rafique G, Asim MB. Prevalence and factors associated with intestinal parasitic infection among children in an urban slum of Karachi. *PLoS One.* 2008; 3: e3680.
- Mekete K, Ower A, Dunn J, Sime H, Tadesse G, Abate E, et al. The Geshiyaro Project: a study protocol for developing a scalable model of interventions for moving towards the interruption of the transmission of soil-transmitted helminths and schistosome infections in the Wolaita zone of Ethiopia. *Parasit Vectors.* 2019; 12:503.
- Mekonnen HS, Ekubagewargies DT. Prevalence and factors associated with intestinal parasites among under-five children attending Woreta Health Center, Northwest Ethiopia. *BMC Infect Dis.* 2019; 19 :256.

- Melese B, Paulos W, Astawesegn FH, Gelgelu TB. Prevalence of diarrheal diseases and associated factors among under-five children in Dale District, Sidama zone, Southern Ethiopia: a cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2019; 19: 1235.
- Melese M, Birhan TA, Simegn W, Adugna DG, Diress M, Getawa S, Azanaw J. Prevalence of diarrhea, intestinal parasites, and associated factors among under-five children in dabat district, northwest Ethiopia: multicenter cross-sectional study. *Environ Health Insights*. 2023; 17:117.
- Mero S, Kirveskari J, Antikainen J, Ursing J, Rombo L, Kofoed PE, et al. Multiplex PCR detection of *Cryptosporidium* sp, *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica* directly from dried stool samples from Guinea-Bissauan children with diarrhoea. *Infect Dis (Lond)*. 2017; 27:1-9.
- Mohammadzadeh I, Rostami A, Darvish S, Mehravar S, Pournasrollah M, Javanian M, et al. Exposure to *Ascaris lumbricoides* infection and risk of childhood asthma in north of Iran. *Infection*. 2019; 47:991-999.
- Moser W, Schindler C, Keiser J. Drug combinations against soil-transmitted helminth infections. *Adv Parasitol*. 2019; 103:91-115.
- Murhima'Alika CC, Balolebwami Zigabe S, Bahati Lufungulo Y, Mwene-Batu Lyabayungu P, Garhalangwa Mayeri D. Nutritional and health status of a cohort of school-age children born to mothers treated for severe acute malnutrition in their childhood in The Democratic Republic of Congo. *PLoS One*. 2022; 17: e0269527.
- Njoku MO, Iloh KK, Okike CO, Njoku GC, Ojinnaka NC. The prevalence and intensity of intestinal helminths among institutionalized children in three states of South-East Nigeria. *Niger J Clin Pract*. 2022; 25:718-724.
- Norman FF, Comeche B, Chamorro S, Pérez-Molina JA, López-Vélez R. Update on the major imported protozoan infections in travelers and migrants. *Future Microbiol*. 2020; 15:213-225.
- Núñez FA, Cordoví RA. Manual de Técnicas Básicas para el diagnóstico de las Parasitosis Intestinales UNICEF. La Habana, Cuba: IPK, 2006.
- Núñez FA, González O, Bravo JR, Escobedo AA, González I. Parasitosis intestinales en niños ingresados en el Hospital Universitario Pediátrico del Cerro, La Habana, Cuba. *Rev Cub Med Trop* 2003; 55: 19-26.

- Núñez FA, Rodríguez-Ortega M, Fresco-Sampedro, Jerez-Puebla LE. Parasitic Diarrhea in Cuban Patients. *Ann Infect Dis Epidemiol.* 2017; 2: 1-3.
- Oppong TB, Yang H, Amponsem-Boateng C, Kyere EKD, Abdulai T, Duan G, Opolot G. Enteric pathogens associated with gastroenteritis among children under 5 years in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiol Infect.* 2020; 148: e64.
- Oswald WE, Halliday KE, Mcharo C, Witek-McManus S, Kepha S, Gichuki PM, *et al.* Domains of transmission and association of community, school, and household sanitation with soil-transmitted helminth infections among children in coastal Kenya. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019; 13: e0007488.
- Özkan-Ahmetoğlu M, Demirel F, Taşar MA, Dinç B, Sarzhanov F, Dogruman-Al F. Investigation of intestinal parasites by conventional and molecular methods in children with gastrointestinal system complaints. *Parasitol Res.* 2023; 122: 1361-1370.
- Pacheco FTF, Freitas HF, Silva RKNR, Carvalho SS, Martins AS, Menezes JF, Ribeiro TCM. *Cryptosporidium* diagnosis in different groups of children and characterization of parasite species. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2022; 55: e00412022.
- Pazmiño FA, Mora-Salamanca AF, Mahecha BSP, Moreno EJP, Olivera MJ, Ospina AK, López MC. Prevalence of intestinal parasitism in preschool and school children in Colombia: Systematic review and meta-analysis. *Trop Med Int Health.* 2022; 27: 781-794.
- Potgieter N, Heine L, Ngandu JPK, Ledwaba SE, Zitha T, Mudau LS, Becker P, Traore AN, Barnard TG. High Burden of co-infection with multiple enteric pathogens in children suffering with diarrhoea from rural and peri-urban communities in South Africa. *Pathogens.* 2023; 12: 315.
- Prüss-Ustün A, Wolf J, Bartram J, Clasen T, Cumming O, Freeman MC, Gordon B, Hunter PR, Medlicott K, Johnston R. Burden of disease from inadequate water, sanitation and hygiene for selected adverse health outcomes: An updated analysis with a focus on low- and middle-income countries. *Int J Hyg Environ Health.* 2019; 222: 765-777.
- Guerrero R. Acute invasive diarrhea in the pediatric patient. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1989;169:24-7.
- Guevara, A., Vicuña, Y., Costales, D., Vivero, S., Anselmi, M., Bisoffi, Z., & Formenti, F. (2019). Uso de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real para diferenciar entre

Entamoeba histolytica patógena y *Entamoeba dispar* no patógena en Ecuador. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 81–82.

- Rivero MR, De Angelo C, Nuñez P, Salas M, Motta CE, Chiaretta A. Environmental and socio-demographic individual, family and neighborhood factors associated with children intestinal parasitoses at Iguazú, in the subtropical northern border of Argentina. PLoS Negl Trop Dis. 2017; 20; 11: e0006098.
- Rojas L, Núñez FA, Aguiar PH, Silva LC, Álvarez D, Martínez R, *et al.* Segunda encuesta nacional de infecciones parasitarias intestinales en Cuba, 2009. Rev Cubana Med Trop 2012; 64:15-21.
- Samie A, Mahlaule L, Mbatia P, Nozaki T, ElBakri A. Prevalence and distribution of *Entamoeba* species in a rural community in northern South Africa. Food Waterborne Parasitol. 2020; 18: e00076.
- Sanjurjo E, Rodríguez M, Bravo JR, Finlay CM, Silva LC, Gálvez MD. Encuesta Nacional de Parasitismo Intestinal. La Habana, Cuba: Ministerio de Salud Pública. 1984.
- Savioli L, Smith H, Thompson A. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'Neglected Diseases Initiative'. *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'Neglected Diseases Initiative'. Trends Parasitol. 2006; 22:203-8.
- Shirley DT, Watanabe K, Moonah S. Significance of amebiasis: 10 reasons why neglecting amebiasis might come back to bite us in the gut. PLoS Negl Trop Dis. 2019; 13: e0007744.
- Singh A, Banerjee T, Khan U. Epidemiology of clinically relevant *Entamoeba* spp. (*E. histolytica*/*dispar*/*moshkovskii*/*bangladeshi*): A cross sectional study from North India. In PLoS Neglected Tropical Diseases. 2021; 16: 9-16.
- Smits N. A note on Youden's J and its cost ratio. BMC Medical Research Methodology 2010, 10:89.
- Stephenson LS, Latham MC, Kinoti SN, Kurz KM, Brigham H. Improvements in physical fitness of Kenyan schoolboys infected with hookworm, *Trichuris trichiura* and *Ascaris lumbricoides* following a single dose of albendazole. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg 1990; 84:277–282.
- Veesenmeyer AF. Important nematodes in children. Pediatr Clin North Am. 2022; 69:129-139.

- Verweij JJ, Schinkel J, Laeijendecker D, van Rooyen MA, van Lieshout L, Polderman AM. Real-time PCR for the detection of *Giardia lamblia*. Mol Cell Probes. 2003; 17:223-225.
- Verweij JJ, Stensvold CR. Molecular testing for clinical diagnosis and epidemiological investigations of intestinal parasitic infections. Clin Microbiol Rev. 2014; 27: 371–418.
- Villamizar, X., Higuera, A., Herrera, G., Vasquez-A, L. R., Buitron, L., Muñoz, L. M., Gonzalez-C, F. E., Lopez, M. C., Giraldo, J. C., & Ramírez, J. D. (2019). Molecular and descriptive epidemiology of intestinal protozoan parasites of children and their pets in Cauca, Colombia: A cross-sectional study. In BMC Infectious Diseases (Vol. 19, Issue 1).
- Weldesenbet H, Worku A, Shumbej T. Prevalence, infection intensity and associated factors of soil transmitted helminths among primary school children in Gurage zone, South Central Ethiopia: a cross-sectional study design. BMC Res Notes. 2019; 12:231.
- Widmer G, Carmena D, Kváč M, Chalmers RM, Kissinger JC, Xiao L, Sateriale A, *et al.* Update on *Cryptosporidium* spp.: highlights from the Seventh International *Giardia* and *Cryptosporidium* Conference. Parasite. 2020; 27:14.
- World Health Organization W.H.O World Health Organization/Pan American Health Organization/UNESCO report on biomedical research. Wkly Epidemiol. Rec. 2000; 72:97–100.
- Wu Y, Chang Y, Zhang X, Chen Y, Li D, Wang L, *et al.* Molecular characterization and distribution of *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, and *Enterocytozoon bieneusi* from yaks in Tibet, China. BMC Vet Res. 2019; 15:417.
- Xu N, Liu H, Jiang Y, Yin J, Yuan Z, Shen Y, Cao J. First report of *Cryptosporidium viatorum* and *Cryptosporidium occultus* in humans in China, and of the unique novel *C. viatorum* subtype XVaA3h. BMC Infect Dis. 2020; 20:16.
- Yu W, Ross AG, Olveda RM, Harn DA, Li Y, Chy D, Williams GM. Risk of human helminthiases: geospatial distribution and targeted control. Int J Infect Dis. 2017; 55:131-138.

IX. ANEXOS

IX. Anexos

ANEXO 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Protocolo de Investigación:

Caracterización de las infecciones por protozoos intestinales asociadas a enfermedad diarreica aguda, en niños de 0-5 años, Hospital Pediátrico Docente "William Soler", 2022

El Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK), se propone realizar una investigación acerca de la detección molecular de protozoos intestinales causantes de diarreas en niños. Nos proponemos implementar técnicas sofisticadas que permitan aumentar la sensibilidad diagnóstica de nuestro laboratorio.

En el estudio se utilizarán muestras de heces de su niño para diagnosticar la presencia de los protozoos más frecuentes. Se recogerán además los datos clínicos y epidemiológicos en un modelo de cuestionario por parte de los investigadores presentes en este estudio.

Nuestro objetivo es detectar primeramente por estudio convencional (examen directo, técnica de Willis y Zielh-Neelsen modificada), los protozoos intestinales más frecuentes (*Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp y *Entamoeba histolytica*), además se realizará qPCR o PCR en tiempo real para *Giardia lamblia*; lo que nos ofrece una mayor sensibilidad comparado con la microscopía y las técnicas inmunodiagnósticas. De esta manera podemos obtener un mejor resultado y así poder caracterizar clínica, y epidemiológicamente las infecciones con protozoos intestinales en niños ingresados con cuadros diarreicos en la población a estudiar. Declaro que he sido informado (a) del objetivo del estudio, así como la importancia de los resultados de la investigación.

Para constancia de lo expuesto con anterioridad firmamos este documento a los ___ días del mes de _____ del año _____.

Nombre del niño _____

Nombre y Firma del Padre o tutor _____

Parte I: Hoja informativa

Propósito y descripción de la investigación

Esta investigación será útil para conocer sobre la etiología infecciosa parasitaria en pacientes pediátricos con diarrea mediante la combinación de técnicas diagnósticas microscópicas convencionales con técnicas moleculares como la PCR en tiempo real que permite la detección molecular, lo cual resultará importante en la estimación de la prevalencia de diarrea de etiología parasitaria y su relación con características clínicas y epidemiológicas en niños con cuadros diarreicos. Esta investigación ayudaría a tener una panorámica más integral de los agentes parasitarios más frecuentes que causan diarrea en niños atendidos en el Hospital "William Soler".

Participación voluntaria

Su participación es enteramente voluntaria. Es su elección decidir si participa o no en la misma.

Procedimientos

A cada padre y/o tutor se le llenará un cuestionario, que recogerá datos de identificación personal y otros datos clínicos y epidemiológicos sobre su hijo en una entrevista individual. Usted será responsable de la información verídica que nos comunique sobre su hijo y de Usted, según preguntas realizadas en la encuesta. Nosotros lo invitamos a formar parte de este proyecto de investigación. Si usted acepta, deberá responder las preguntas que le realice el entrevistador. Si usted no quisiera responder alguna pregunta incluida en el cuestionario, usted la puede saltar y pasar a la siguiente.

Riesgos e incomodidades

El presente estudio no ocasiona riesgos para la salud de las personas seleccionadas. Solo se tratará de coleccionar las muestras de heces de su hijo/a para examen parasitológico. Usted no tiene que contestar todas las preguntas o tomar parte en la conversación si usted siente en algún momento que las preguntas son demasiado personales o si hablar de ellas le hace sentirse incómodo

Beneficios

El beneficio de este proyecto es que si su hijo se encuentra infectado con algún parásito patógeno será tratado por dos médicos del equipo de investigación con fármacos y esquemas de tratamiento de acuerdo al tipo de infección parasitaria que sea encontrada.

Incentivos

Usted no recibirá ninguna remuneración financiera por formar parte de la investigación.

Confidencialidad

Nosotros no compartiremos los resultados fuera del equipo de investigación. La información que nosotros coleccionemos de este proyecto investigación será conservada en privado y nadie tendrá acceso a ella excepto los investigadores.

Resultados compartidos

Los resultados parasitológicos de los niños parasitados con algún parásito de importancia médica serán entregados directamente del Laboratorio de Parasitología del Hospital "William Soler" al Pediatra que forma parte de esta investigación de dicha institución. Los padres y/o tutores tendrán derecho a conocer los resultados de los métodos empleados para el diagnóstico de las infecciones por parásitos intestinales. El conocimiento que nosotros obtengamos

de esta investigación será compartido con usted y las demás personas incluidas en el estudio antes de hacerlo público, para ese fin se harán dos reuniones donde usted podrá asistir para conocer estos resultados. Después de las reuniones los resultados se divulgarán para que otras personas interesadas puedan aprender de la investigación.

Derecho a no participar o retirarse

Usted no tiene que tomar parte en la investigación si no desea hacerlo. Usted tiene el derecho de retirarse de la investigación si así lo desea en cualquier momento. Esto no lo afectará a usted de ninguna forma.

A quien contactar

Si usted desea hacer alguna pregunta puede hacerla ahora o después. Si usted quisiera hacerla más tarde usted puede contactar a:

Dra. Madelaine Miranda Machado. Teléfono: 255-3642.

Correo electrónico: madelaine.miranda@ipk.sld.cu

Lic. Luis Enrique Jerez. Teléfono: 255-3642.

Correo electrónico: ljerezp@ipk.sld.cu

Dr. Fidel Ángel Núñez. Teléfono: 255-3645 ó 255-3642.

Correo electrónico: fan@ipk.sld.cu

Parte II: Certificado de Consentimiento

Yo confirmo que he sido informado (a) sobre el Objetivo del estudio, que he recibido la información necesaria sobre la misma, así como la importancia de los resultados de la investigación y una copia del consentimiento informado, el cual he leído y he comprendido el propósito de los datos colectados, procesados y usados en el contexto de este estudio. Yo he tenido la oportunidad de realizar preguntas y he recibido respuestas satisfactorias para mí. Yo he consentido voluntariamente en participar en el estudio y he comprendido que tengo **el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento, sin que esto tenga ninguna implicación para mí y para mi hijo/a.**

Nombre del niño: _____

Nombre del padre o tutor

Firma

Fecha (día/mes/año)

Testigo

He sido testigo de la lectura del consentimiento informado al participante y el individuo ha tenido la oportunidad de realizar preguntas. Yo confirmo que el individuo ha tenido la posibilidad de brindar su consentimiento libremente.

Nombre del testigo

Firma

Fecha (día/mes/año)

ANEXO 2

ENCUESTA DE PARASITISMO INTESTINAL

Encuesta No.

Nombre (s) y Apellidos _____

Dirección: Calle _____ No ___% _____ y _____ Barrio

_____ Municipio: _____ Provincia _____

Fecha de Nacimiento: _____ Peso: ____ (kg.) Talla: _____ (cm)

Edad: ____ Fecha de llenado de la encuesta: _____

LOCALIZACIÓN DE LA VIVIENDA.

Urbana ---- Rural ----

SEXO.

Masculino---- Feminino.----

-PROCEDENCIA:

Círculo Infantil

Escuela

Vía no formal

- Lactancia Materna

NO SÍ

Duración _____

- Características de la Diarrea Actual

Duración _____ (días)

Fecha Comienzo _____

Frecuencia (24 h) _____

Presencia en las heces de:

Sangre__ Mucus__ Pus__

Cantidad de heces:

Escasa Normal Abundante

Consistencia: Líquida Semilíquida

Pastosa Semipastosa

- Color de las heces: _____

No. miembros núcleo familiar: _____. No. de habitaciones (dormitorios) en la vivienda: _____

TRASTORNOS ACOMPAÑANTES

Dolor abdominal

Vómitos-----

náuseas -----

pérdida de peso

prurito anal

pérdida de apetito

fatiga -----

flatulencia

fiebre -----

dolor de cabeza

Otros(¿Cuáles?): _____

Ninguno-----

Otros Análisis Complementarios:

Anemia: NO---- SÍ _____g/%

Eosinofilia: NO---- SÍ _____%

Tratamiento (Fecha de Comienzo) _____

Hidratación: oral parenteral ninguna

Antibióticos o Quimioterapéuticos:

Antiparasitarios: _____

Diagnóstico de Laboratorio:

Parasitológico: _____

Contacto con animales: Hábitos Higiénicos-Sanitarios

- Perros SÍ NO - Hierve agua para tomar SÍ NO
- Gatos SÍ NO - Se lava las manos después de comer. SÍ NO
- Caballos SÍ NO - Se lleva el dedo a la boca. SÍ NO
- Pájaros SÍ NO - Lava las verduras antes de comer SÍ NO
- Palomas SÍ NO - Lava las frutas antes de comer SÍ NO
- Pollos SÍ NO - Chupa el tete SÍ NO
- Cerdos SÍ NO - Se lava las manos después de ir al baño. SÍ NO Reses SÍ NO
- Otros animales SÍ NO ¿Cuáles? _____
- Ninguno SÍ NO ¿Hay otras personas en el hogar con diarreas? Sí: _____ No: _____

Para ser llenado por el laboratorio

Parásitos identificados

- Trichuris trichiura*
- Enterobius vermicularis*
- Ascaris lumbricoides*
- H. nana*
- Endolimax nana*
- Entamoeba coli*
- E. histolytica / E. dispar*
- Taenia spp.*

- Giardia lamblia*
- Blastocystis* spp
- Ancylostomideos
- Strongyloides stercoralis*
- Cryptosporidium* spp.
- Cyclospora cayetanensis*
- Cystoisospora belli*

Otros ¿cuáles? _____ Ninguno. -----

Resultados	Directo	Willis	Ziehl Neelsen	PCR
Muestra				