



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

TESIS

**“*Giardia lamblia* EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA:
FRECUENCIA, DISTRIBUCIÓN, SINTOMATOLOGÍA Y FACTORES
DE RIESGO”**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACOBIOLOGA**

PRESENTA:

P Q.F.B. IRIS ADRIANA ZAMORA ESPINOSA

ASESOR DE TESIS:

Q.F.B. GUADALUPE ERÉNDIRA OROZCO MOSQUEDA

CO-ASESOR:

DR. JOSE LUIS MARTÍNEZ TOLEDO

MORELIA, MICHOACÁN SEPTIEMBRE DE 2010



DEDICATORIA



Este trabajo está dedicado a mis padres, gracias a su apoyo, confianza y consejos.

AGRADECIMIENTOS



A la Q.F.B Guadalupe Eréndira Orozco Mosqueda por su asesoría en la realización de este trabajo.

Al Dr. José Luis Martínez Toledo por su ayuda.

A mis revisores Q.F.B Rebeca Tinoco Martínez, Dr. Daniel Godínez Hernández, así como al D.C. Gustavo Santoyo Pizano.

A mis amigos que estuvieron junto a mí en todos estos años siempre apoyándome: Samantha, Sarahi, Jorge Luis, Selene, Diego, Briza, Viridiana, Uziel, Miguel, Simón, a todos muchas gracias.

ÍNDICE:

	Página
1.- Resumen.....	2
2.- Introducción.....	3
3.- Antecedentes.....	4
4.- Justificación.....	12
5.- Objetivos.....	15
a) General.....	15
b) Específicos.....	15
6.- Material y Métodos.....	17
7.- Resultados.....	17
8.- Discusión.....	23
9.- Conclusiones.....	24
10.- Recomendaciones.....	24
11.- Bibliografía.....	25
12.- Anexos.....	30

1.- RESUMEN

Giardia lamblia es un parásito cosmopolita que causa la enfermedad giardiasis y es considerado el patógeno más frecuente en varios países de América Latina, incluyendo México, sobre todo preescolares. El síntoma mayormente atribuido al parásito es dolor abdominal. Su presencia guarda estrecha relación con las condiciones sanitarias e higiene personal deficientes. El presente trabajo tiene como finalidad evaluar la frecuencia, distribución, sintomatología y factores de riesgo asociados a *Giardia lamblia*. Este es un estudio de tipo descriptivo, retrospectivo. Se incluyeron muestras de excremento de niños remitidos del servicio de consulta externa y hospitalizados, en el periodo comprendido de enero de 2008 a junio de 2009. Al recibir las muestras se realizó una encuesta para conocer los síntomas y factores de riesgo asociados. Las muestras fueron procesadas por examen coproparasitológico directo en fresco con solución salina isotónica, concentración por flotación y por sedimentación, así como tinción tricrómica de Kinyoun y micrometría. Se colectaron en total muestras de 1,124 niños; 30% tenían parásitos patógenos y/o patógenos-comensales, 4% comensales y 66% no tenían parásitos. *Giardia lamblia* fue el parásito patógeno más frecuente (51.4%), encontrándose un 45.7% como único agente, con mayor incidencia en escolares del sexo masculino. La eliminación del parásito fue intermitente en un 25.5% de los casos.

Los principales síntomas referidos por los niños fueron: dolor abdominal (88.8%), plenitud abdominal (83.3%) y gases (72.2%), sólo los dos primeros tuvieron diferencia estadísticamente significativa ($P \geq 0.05$). Los factores de riesgo relacionados (RR) a la parasitosis fueron: la falta de lavado de frutas (RR 2.25) y la convivencia con animales (RR1.7).

Concluimos que *Giardia lamblia* es el patógeno más frecuente en los niños que acuden al Hospital Infantil de Morelia y su presencia está asociada a la falta de lavado de frutas y la convivencia con animales.

2.- INTRODUCCIÓN

Las infecciones parasitarias continúan siendo un problema de salud pública, sobre todo en los países en vías de desarrollo, especialmente en áreas tropicales y subtropicales; sin embargo, este problema no se atiende como debiera por su bajo índice de mortalidad y sus efectos a largo plazo.^{1,2} La población afectada principalmente por las infecciones parasitarias es la infantil debido a su inmadurez inmunológica, poco desarrollo de hábitos higiénicos y descuido de la familia, llegando a tener serias consecuencias tanto físicas como desde el punto de vista cognitivo.¹

Se estima que a nivel mundial hay 1000 millones de casos atribuidos a *Ascaris lumbricoides*; 900 millones causados por uncinarias (*Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*) y 500 millones a *Trichuris trichiura*. Otras infecciones por helmintos son significativas a nivel local o regional para la salud pública por sus hábitos alimenticios, como es en el caso de la *Taenia saginata*, *T. solium*, *Hymenolepis nana*.²

Por otro lado, las infecciones del tracto intestinal causadas por protozoos patógenos como *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* son una causa común de diarrea y tienen una distribución mundial.² La infección por *Giardia lamblia* es de índole endémico en todo el mundo. Se estima que anualmente ocurren 200 millones de infecciones por este parásito en África, Asia y América latina.²

En México, *Giardia lamblia* afecta aproximadamente a 9 millones de personas y se considera que la población infantil es la más vulnerable. Se han reportado cifras desde 1 hasta 60% de casos positivos a Giardiasis.³

3.- ANTECEDENTES

El parásito *Giardia lamblia* es un organismo protozoo multiflagelado, que fue descrito por Antoine Van Leeuwenhoek de sus propias heces analizadas en 1681.

⁴ Por mucho tiempo se sospechó que *Giardia* era un patógeno exclusivo de animales. ⁴ Fue en 1962 que se reconoce su patogenicidad y en 1987 se demostró la infección experimental humana por *Giardia* cumplía los postulados de Koch. ⁵

En la clasificación de los protozoos de Levine (1980), el género *Giardia* se incluye en el Phylum Sarcomastigophora, Subphylum Mastigophora, Clase Zoomastigophorea, Orden Diplomonadida, Familia Hexamitidae que incluye un único género: *Giardia*. ^{5, 7}

La giardiasis es una de las infecciones parasitarias gastrointestinales más comunes en todo el mundo, en los países en desarrollo se encuentra una frecuencia de más del 20%. Las regiones de mayor riesgo son Eurasia, el sudeste de Asia, África, México y Sur América. En los Estados Unidos la *giardiasis* es la principal infección por protozoos intestinales. ⁶

Se han descrito 41 especies diferentes de *Giardia*; sin embargo, de acuerdo a la morfología de Erlandsen (1990), de disposición de las estructuras microtubulares presentes en los cuerpos medios de los trofozoítos, se admiten tres grupos de especies: *Giardia agilis*, *Giardia muris* y *Giardia intestinalis* (*duodenalis* o *lamblia*).⁵

Los estudios de secuenciación del gen que codifica la subunidad pequeña o 18S rRNA (SS rRNA), utilizados en los sistemas actuales de clasificación molecular de los microorganismos eucariotas, señalan a *Giardia* como el organismo eucariota más primitivo conocido en la escala evolutiva entre los procariotas y eucariotas. ⁵

Giardia lamblia tiene un genoma de 11.7 megabases, conteniendo 6.470 genes codificadores de proteínas, un porcentaje de contenido G+C de 49, una densidad genética por kilobase de 0.58 y 63 ARN de transferencia.⁸

Tradicionalmente, las especies dentro del género *Giardia* se consideran como organismos eucariotas, que muestran reproducción asexual por fisión binaria. La ausencia de reproducción sexual aparente se ha cuestionado con base en una serie de estudios que han demostrado lo siguiente: (i) la presencia de *Giardia duodenalis* en el genoma de los genes homólogos que participan específicamente en la meiosis en otros eucariotas y su etapa de expresión específica, (ii) el intercambio de material genético en distintas regiones cromosómicas, entre las cepas humanas del parásito, (iii) la fusión entre el quiste de los núcleos (cariogamia) y la transferencia de material genético (plásmidos episomales) entre ellos. Estos resultados son fundamentales para la existencia de la recombinación sexual.⁹

Otro hallazgo importante es que los genes que permiten al parásito eludir la respuesta inmune humana están organizados de manera diferente al de otros parásitos, logrando evitar el ataque del sistema inmune mediante el desplazamiento de las proteínas expuestas en su superficie. Estos genes de la superficie de proteínas se dispersan a través del genoma en lugar de encontrarse en grupos.⁸

Una serie de ensayos moleculares ha demostrado la existencia de siete grupos genéticos (o conjuntos) del parásito *Giardia duodenalis*, sólo 2 (A y B) se sabe que causan infecciones en los seres humanos.^{10, 11, 12, 13} Estos conjuntos se han caracterizado en detalle en la genómica, pero pocos estudios han examinado las diferencias en las proteínas expresadas.^{12, 13, 14}

a) Morfología

El parásito presenta fase de trofozoíto y de quiste.

El trofozoíto (figura 1, panel a / figura 2, panel i) mide 9-21 µm de largo, 5-15 µm de ancho; tiene forma de pera con un extremo de forma de huso. Su movilidad es

activa, “como hoja que cae”. Posee cuatro pares de flagelos que salen de blefaroplasto en forma de varilla recta (anterolateral, posterolateral, ventral y central). Tiene dos núcleos lateralmente ubicados. No hay cromatina periférica y es difícil de observar en montajes no teñidos. Presenta pequeños cariosomas centrales.^{4, 10, 15}

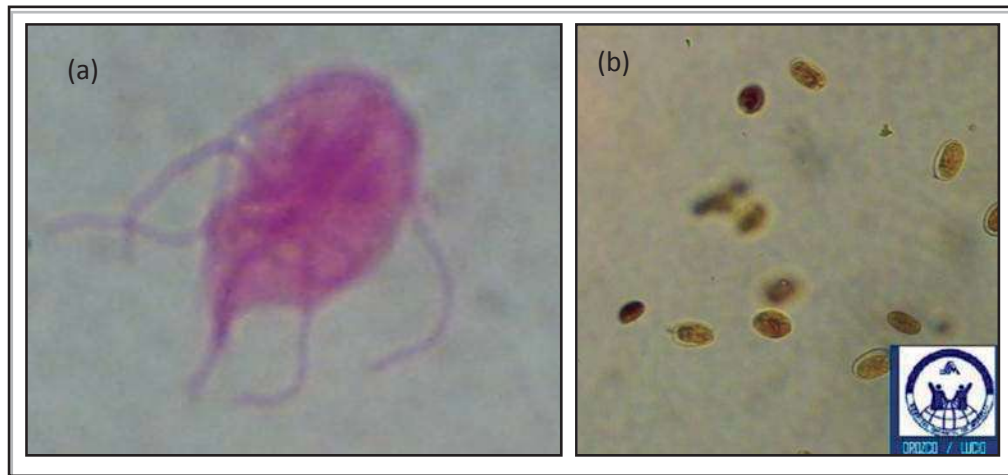


Figura 1: Morfología de *Giardia lamblia*. (a) Trofozoíto de *Giardia* teñido con fucsina: se observan sus 4 pares de flagelos, así como sus 2 núcleos laterales. (b) Quiste de *Giardia* teñido con lugol: es la forma infectante, tiene una pared gruesa que le ayuda a sobrevivir en ambientes extremos. (Archivo Hospital Infantil, Orosco-Lucio.)

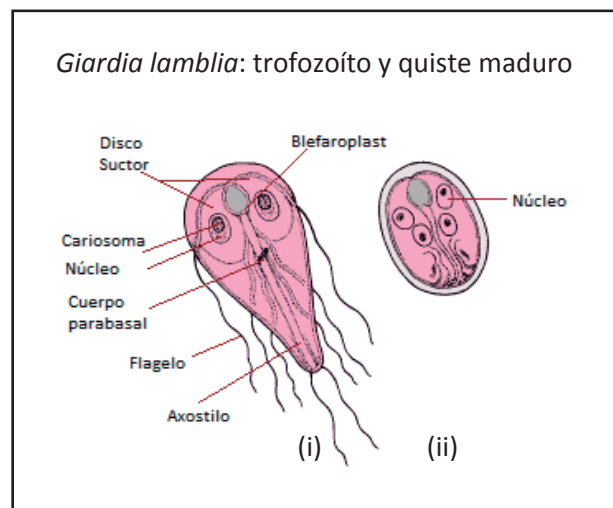


Figura 2: Descripción de *Giardia lamblia*: (i) Trofozoíto (ii) Quiste (Modificado de: madurobiomag-med.blogspot.com)

El citoplasma del trofozoíto es uniforme y finamente granular. Tiene dos cuerpos medianos que aparecen un bigote y el cuerpo parabasal en el axostilo. Presenta dos discos adversos que ocupan la mitad de la superficie ventral. Otros orgánulos celulares son el aparato de Golgi (descrito en trofozoítos que están en proceso de enquistamiento), lisosomas y ribosomas. No se han identificado mitocondrias ni retículo endoplásmico liso. ^{4, 7, 15}

El quiste (figura 1, panel b / figura 2, panel ii) mide 8-12 μm de largo y 7-10 μm de ancho; es ovalado. Los quistes inmaduros o recién formados tienen dos núcleos y se denominan prequistes y los quistes maduros son tetranucleados. Los núcleos suelen localizarse en el extremo del quiste. El cariosoma nuclear, puede tener una posición central o excéntrica y la membrana nuclear carece de cromatina periférica. ^{4, 7, 15}

Poseen un citoplasma granular, fino, claramente separado de una pared quística de 0.3 μm de espesor adosada a la membrana plasmática del parásito, produce un efecto de halo fácil de reconocer. Pueden observarse fibrillas longitudinales mal definidas. Hay cuatro cuerpos medios. También se observan numerosos ribosomas, vacuolas y fragmentos del disco ventral. Por el contrario, no se observan mitocondrias, aparato de Golgi, ni retículo endoplásmico rugoso. ^{4,7}

b) Ciclo de vida

El ciclo de vida se completa por una vía de transmisión fecal-oral. Inicia por la ingesta del agua contaminada con quistes (arroyos, pozos o depósitos contaminados) o por convivencia con animales infectados como perros y gatos, que transmiten los quistes (figura 3). ¹⁶

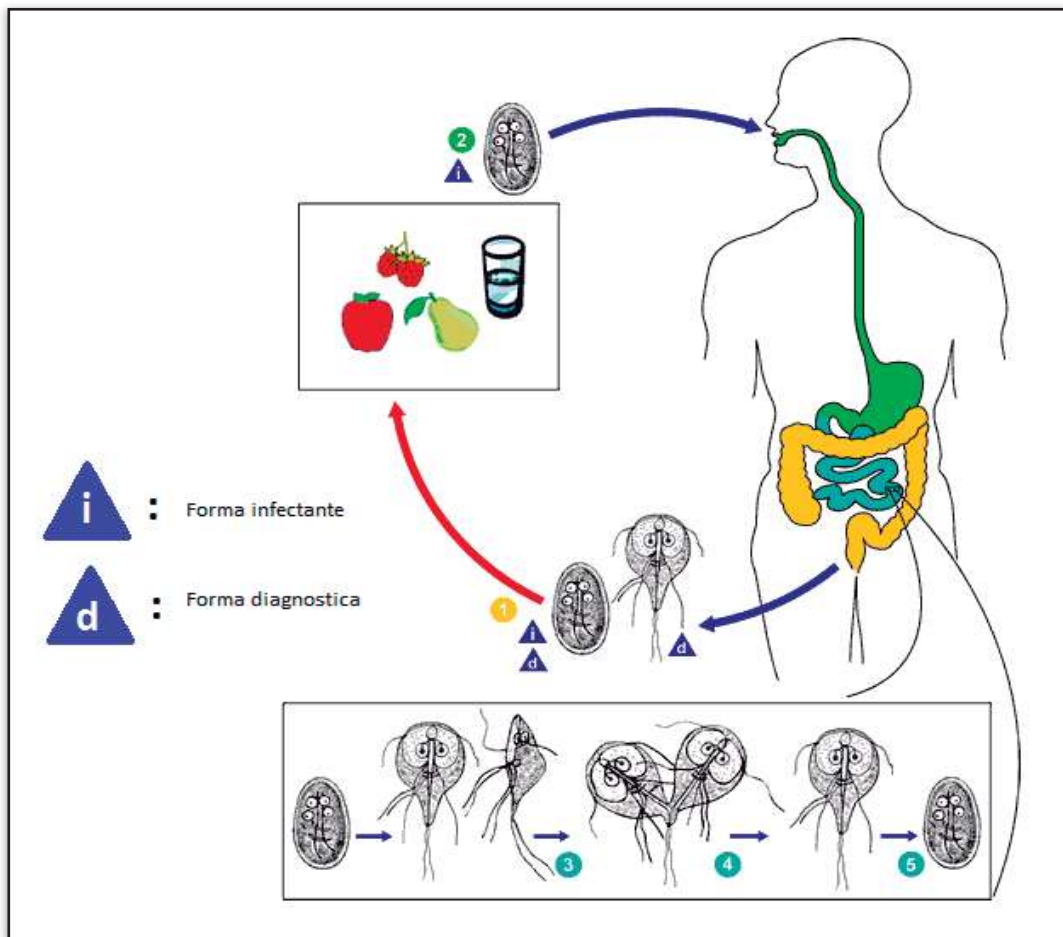


Figura 3: Ciclo de vida de *Giardia lamblia*: (1) Los quistes son formas resistentes y los responsables de transmitir la giardiasis. La forma diagnóstica de esta enfermedad en la presencia tanto de quistes como de trofozoítos. (2) La infección ocurre mediante la ingestión del quiste que se encuentra en agua o alimentos contaminados o por vía fecal-oral. (3) Al ingerir el quiste se reblandece la pared quística mediante la acción de los jugos gástricos (Romero, 1993). Posteriormente en el duodeno se rompe la pared dando origen a trofozoítos tetranúcleados, los cuales se dividen dando origen a dos trofozoítos binúcleados. (4) Los trofozoítos se multiplican por fisión binaria longitudinal. (5) La enquistación ocurre conforme el parásito es arrastrado por el tránsito intestinal hacia el colon. El quiste es la forma más común de diagnóstico en heces, se observan trofozoítos cuando hay tránsito intestinal acelerado. (Tay, 1993) (Imagen modificada de www.cdc.gov/dpdx)

Giardia lamblia es el agente etiológico más frecuente identificado en los brotes asociados con la ingesta de aguas superficiales, a menudo debido a su mal tratamiento. Una dosis infectante baja de 10 a 25 quistes, es suficiente para producir la infección humana.¹⁷

Los quistes tienen una supervivencia prolongada en condiciones ambientales adversas. Una vez ingerido se desenquista en el duodeno y comienza la multiplicación en la forma de trofozoíto dentro del ser humano por fisión binaria, liberando dos trofozoítos.⁷

El parásito tiene su hábitat en las criptas del duodeno y yeyuno donde se desplaza por movimientos flagelares. Este se pone en contacto con la mucosa donde se adhiere firmemente con su disco suctor.^{1, 3, 4} El ciclo de vida del parásito continúa cuando los trofozoítos deben seguir un proceso de enquistamiento, el cual tiene lugar cuando las heces se van deshidratando durante su tránsito al exterior, por lo tanto los quistes se observan comúnmente en las heces de consistencia normal, en ocasiones tan abundantes como 21, 000, 000 por gramo de materia fecal.⁷

c) Patogenia

Se desconocen los mecanismos exactos por los cuales *Giardia* produce diarrea. El órgano principal de adherencia como se mencionó anteriormente es el disco de succión ventral, pero es probable que una lectina desempeñe una función secundaria en la adherencia. La mucosa intestinal casi nunca resulta invadida en el humano y la giardiasis extraintestinal es extremadamente rara.^{7,18}

La infección aplana las vellosidades intestinales, lo que perpetúa el cuadro diarreico. También se ha sugerido que algunas cepas de *Giardia* podrían ser productoras de una enterotoxina.^{7,18}

d) Cuadro clínico

La Giardiosis varía dentro de un espectro clínico muy amplio, que va desde los casos que presentan diarrea con pocas evacuaciones importantes, hasta aquellos

donde el síndrome de mala absorción es severo, además de la sintomatología agregada. A veces hay invasión del protozoo a la vesícula biliar en cuyo caso se presenta irritación y edema del ámpula de Vater con obstrucción al paso de la bilis, cólico e ictericia.^{4, 7, 18}

El periodo de incubación dura en promedio 10 días y las molestias más frecuentes son: diarrea, náusea, vómito, dolor en epigastrio, distensión abdominal, anorexia y retardo en el crecimiento. En el síndrome de mala absorción se pierden nutrientes indispensables para el crecimiento y desarrollo del niño, especialmente grasa, lactosa y nutrimentos inorgánicos.^{19, 20}

El cuadro diarreico puede ser agudo, crónico, auto limitado, intermitente o continuo. Las evacuaciones contienen moco pero no sangre y ocasionalmente son de color verdoso y esteatorreicas.⁷

En un estudio realizado en el estado de Sonora, tanto a población urbana como rural notificó que la infección con *Giardia* en niños provocó mala absorción de hierro y vitamina A, contribuyendo a empeorar el estado de anemia.³

e) Diagnóstico

El diagnóstico de *G.lambli*a se realiza mediante el examen directo de heces donde se pueden encontrar quistes y/o trofozoítos, el examen de una muestra simple es capaz de detectar solamente entre el 30 % y el 50 % de los casos, esto se debe en parte a que el examen se realiza después de horas de la deposición, lo que imposibilita la observación de trofozoítos debido a su destrucción, y en el caso de los quistes es conocido que su excreción tiene un patrón intermitente, existiendo gran variación en el número de los mismos en las muestras.^{3, 5}

Un estudio realizado en el Hospital Infantil de México mostró que los quistes de *G.lambli*a fueron expulsados en forma intermitente en el 64.7% y en forma diaria en el 35.3%.²¹ Estos resultados pueden ser ampliamente mejorados con el examen de muestras seriadas y la utilización de técnicas de concentración.^{3, 5}

Los métodos de cultivo "in vitro" para la obtención de antígenos de *G. lamblia*, han permitido el desarrollo de técnicas para la detección de anticuerpos. También se utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en heces.^{3,5} Menos usada es la serología para estudios epidemiológicos por inmunodifusión, inmunofluorescencia indirecta (IFI) o ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* es decir en español *Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas*).³

Los inmunoensayos enzimáticos o métodos de inmunofluorescencia indirecta son útiles para detectar directamente antígeno o al organismo completo.¹⁷

La inmunoglobulina M y G específicos son buenos indicadores para infecciones pasadas o recaídas. La inmunoglobulina A específica en suero indica exposición reciente en brotes de diarrea aguda.¹⁷

Estudios morfológicos de plaquetas en el curso de la giardiosis han demostrado que causa un ligero aumento en el promedio de volumen plaquetario y un aumento del ancho de distribución de plaquetas. Por consiguiente la infección por *Giardia* puede ser un indicador de la activación de las plaquetas.²²

f) Tratamiento

Hay varios medicamentos ampliamente utilizados en el tratamiento de la giardiosis: nitazoxamina, furazolidona, metronidazol y tinidazol.⁷

Los nitroimidazoles, como el metronidazol o el tinidazol son tratamientos efectivos y pueden ser administrados en dosis única. El albendazol y la nitazoxanida son eficaces contra la giardiasis, pero requieren múltiples dosis. La nitazoxanida es el principal fármaco desarrollado para el tratamiento de la giardiasis en más de 20 años.²³

Morrison y colaboradores (2007) reportaron la secuenciación del genoma del parásito *Giardia lamblia*, lo que podría conducir al desarrollo de nuevos fármacos para luchar contra esta parasitosis intestinal.⁸

4.- JUSTIFICACIÓN

La *Giardiosis* tiene distribución cosmopolita. En países como Egipto utilizando PCR se obtuvo una prevalencia de 51.1%; ²⁴ en la India se reporta como el protozoo patógeno más común (22%). ²⁵ En el Líbano la prevalencia es 31.3% situándose en el cuarto lugar entre los patógenos intestinales; ²⁶ en Libia corresponde el 2.5% con un tercer lugar en frecuencia. ²⁷ En Arabia Saudita se encuentra en el 12.5% de pacientes hospitalizados y 2.7% de pacientes ambulatorios, disputándose el primer lugar con *Entamoeba histolytica* / *dispar*; ²⁸ mientras tanto en Brasil en 35 años se encontró el 24%, ²⁹ mientras que, en barrios urbanos en San Paulo en 16.7%. ³⁰ En Guatemala un estudio demostró una prevalencia de un 21.5% en niños, ³¹ en Venezuela se reportan prevalencias del 9.3% en niños, siendo el parásito más frecuente. ³²

En México, afecta aproximadamente a 9 millones de personas y se considera que la población infantil es la más vulnerable. Se han reportado cifras desde 1 hasta 60% de casos positivos a *Giardiosis*. ³

Morales y colaboradores (2003), estudiando 1478 niños de Chiapas, encontraron un 67% de prevalencia global de parasitosis, demostrando a *Giardia lamblia* en un 18.3%. ³³

Larrosa Haro y colaboradores en Guadalajara realizaron un estudio a 288 muestras de preescolares y lactantes, el 2.4% estaban infectados por *G. lamblia*. ³⁴

Cedillo Rivera en Yucatán, estudió la prevalencia de anticuerpos contra el parásito por ensayo inmunoenzimático en 3461 muestras de suero de una encuesta serológica nacional, que incluyó a todas las áreas geográficas y estatus socioeconómicos y demográficos. 1914 muestras (55.3%) fueron positivas para anticuerpos IgG contra *Giardia duodenalis*. ³⁵

El síntoma mayormente atribuido al parásito en un estudio realizado en Pakistán fue el dolor abdominal recurrente (30.96%). La duración media del dolor fue 158 + / -64 días, en el 42% de los pacientes el dolor persistió durante más de 6 meses. Los calambres abdominales, náuseas y vómitos, distensión abdominal, flatulencia / hinchazón, anorexia y pérdida de peso también fueron reportados por los pacientes.³⁶

En Japón se estudiaron 2355 personas identificando en 15 casos al protozoo por medio de colonoscopia (0.51%), de ellos, 26.6% tenían diarrea y/o dolor abdominal.³⁷

Al examinar 845 niños en Brasil, Pérez y colaboradores encontraron al protozoo como el más frecuente (23.8%) tanto en niños con diarrea (28.1%) y sin diarrea (19.5%).³⁸

Un estudio realizado a jóvenes árabes beduinos concluyó que los factores de riesgo asociados a *Giardiasis* fueron la convivencia con animales de ganadería, infección previa por *Escherichia coli* enteroagregativa y la estación (primavera-verano).³⁹

En la India, Ajjampur y colaboradores estudiaron 452 niños infectados por *Giardia*, demostrando que tuvieron mayor riesgo de infección aquellos con bajo nivel socioeconómico y deficiente sistema municipal de agua potable, mientras que con una mejor educación, aseo y madres en el hogar, los niños tenían una menor probabilidad de adquirir diarrea por *Giardia*.⁴⁰

En Pakistán, la prevalencia de las infecciones parasitarias intestinales se estimó en 52,8%, siendo *Giardia lamblia* el parásito más frecuente. El 43% con parasitosis única y 10% con múltiples parásitos. La edad, vivir en hogares de alquiler y la historia de llanto excesivo se asociaron significativamente con las infecciones intestinales parasitarias.⁴¹

Cifuentes y colaboradores estudiaron una población agrícola en México para evaluar los factores de riesgo para el protozooario. Se estudiaron 3 grupos de personas: el primero incluyó 2257 de hogares expuestos a aguas residuales sin tratamiento, el segundo a 2147 que utilizan el efluente de una serie de embalses, y 2.344 agua de lluvia. No se encontró mayor riesgo en individuos expuestos a aguas residuales no tratadas en comparación con los controles, pero los autores concluyen que la incidencia guarda estrecha relación con las condiciones sanitarias, vivienda, higiene personal y nivel educativo.^{18, 42}

Otros estudios han demostrando que el agua para consumo humano es una fuente de infección importante encontrándose concentraciones de cinco quistes/ml en la ciudad de Hermosillo y de 17 en la de Obregón.³

El presente trabajo pretende contribuir en el conocimiento de la frecuencia de *Giardia lamblia* en niños atendidos en el Hospital de Morelia. Conocer mejor los factores de riesgo principalmente asociados, así como los síntomas relacionados al parásito, para apoyar al clínico en el diagnóstico y coadyuvar a la mejoría de la salud del paciente. Finalmente, este estudio servirá como un referente comparativo de otros estudios a nivel nacional e internacional.

5.- OBJETIVOS

a) Objetivo general

Analizar la frecuencia, distribución, sintomatología y factores de riesgo de *Giardia lamblia* en niños con síntomas gastrointestinales que acuden al Hospital Infantil de Morelia.

b) Objetivos específicos

- 1.- Estimar la frecuencia de *Giardia* y su asociación con otros parásitos en niños del Hospital Infantil de Morelia
- 2.-Conocer la distribución del parásito por grupos etarios, sexo y estacionalidad.
- 3.- Describir las principales manifestaciones clínicas.
- 4.- Identificar factores de riesgo.

6.- MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio fue realizado en pacientes del Hospital Infantil de Morelia remitidos de los servicios de consulta externa y hospitalizados, con síntomas gastrointestinales, a los cuales se les realizó examen coproparasitoscópico en serie, de enero de 2008 a junio de 2009.

Antes de coleccionar las muestras los pacientes recibieron las indicaciones por escrito para la correcta recolección de las mismas (Anexo 1). Al recibir las muestras se realizó una encuesta para conocer los síntomas y factores de riesgo asociados. (Anexo 2).

Las muestras fueron procesadas por examen directo en fresco, concentración por sedimentación (Técnica de Ritchie) y por flotación (Técnica de Faust), así como tinción tricrómica, de Kinyoun y micrometría (Anexo3).

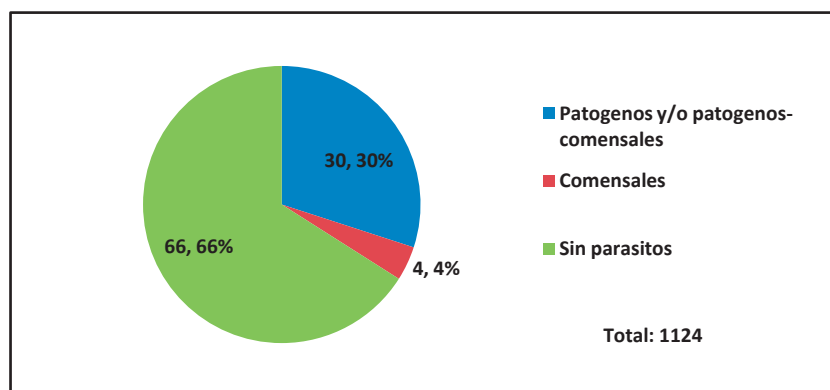
Los datos obtenidos fueron concentrados en Excel (Microsoft) y se presentan en gráficos y tablas usando porcentajes.

Para validar los síntomas y factores y riesgo se uso la chi cuadrada con $p \geq 0.05$ y 1 grado de libertad.

7.- RESULTADOS

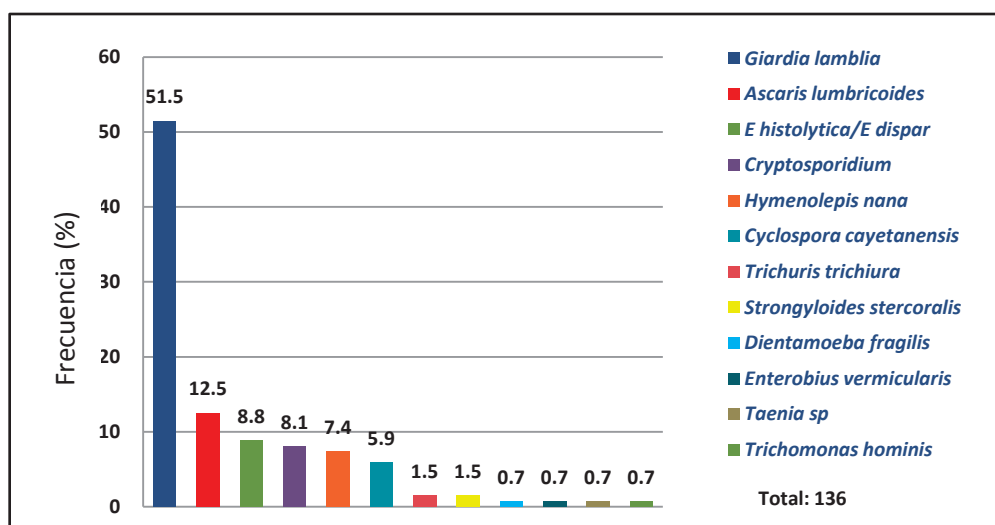
Se analizaron en total 1,124 muestras; 339 tenían parásitos patógenos únicos o mixtos, 45 comensales y 740 no tenían parásitos. (Gráfico 1)

Gráfico 1: Frecuencia de Parasitosis en los niños de Hospital Infantil



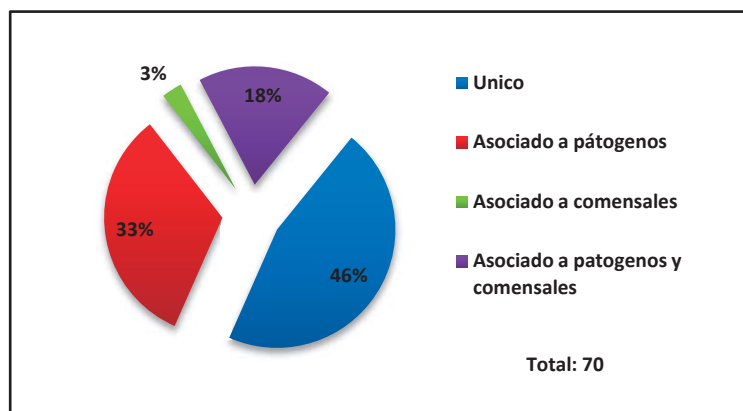
De entre los patógenos, *Giardia lamblia* fue el más frecuente (51.4%), seguido de *Ascaris lumbricoides* (12.5%), el complejo *Entamoeba histolytica/E. dispar* (8.8%), *Cryptosporidium* sp (8.1%), *Hymenolepis nana* (7.4%) y *Cyclospora cayetanensis* (5.9%) (Gráfico 2).

Gráfico 2: Frecuencia de Parásitos Patógenos



Giardia lamblia se encontró como único agente en 45.7%, asociado a patógenos en un 32.8%, asociado a patógenos y comensales en 18.5% y a comensales un 2.8%. (Gráfico 3)

Gráfico 3: Asociación de *G. lamblia* con otros parásitos



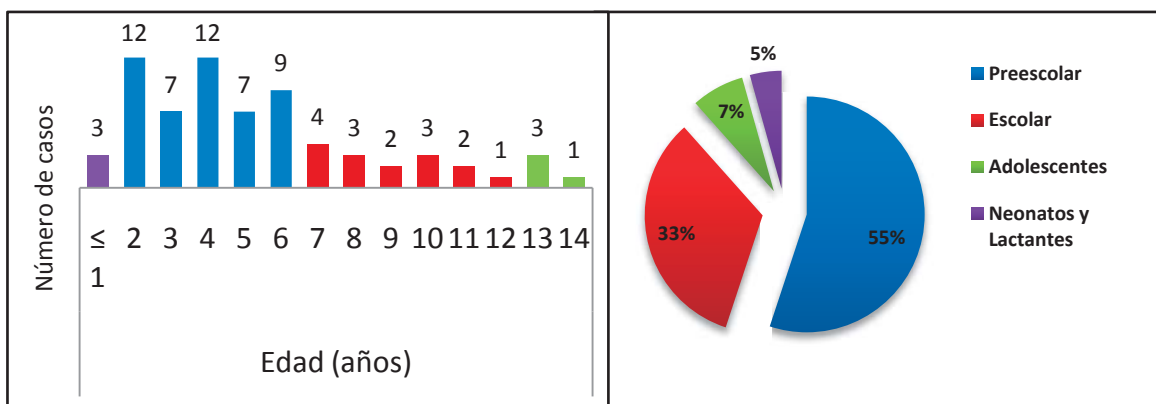
Con respecto a la asociación con parásitos patógenos el más frecuente fue con *Blastocystis sp.* (Tabla 1) encontrándose en un 37.1%.

Tabla 1: Principales parásitos asociados a la infección por *Giardia lamblia*.

Parásito asociado a <i>G. lamblia</i>	N°	%
<i>Blastocystis sp.</i>	26	37.1%
Complejo <i>Enatamoeba histolytica</i> / <i>E. dispar</i>	4	5.7%
Oo <i>Cyclospora cayetanensis</i>	2	2.8%
<i>Hymenolepis nana</i>	2	2.8%
<i>E. Histolotyca</i> eritrifaga	1	1.4%
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1	1.4%
Oo <i>Cryptosporidium</i>	1	1.4%
<i>Trichuris trichiura</i>	1	1.4%

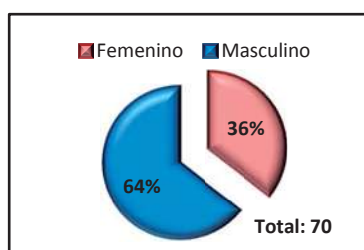
La mayor incidencia se presentó en preescolares, es decir en niños de 2 a 5 años. (Gráfico 4).

Gráfico 4: Frecuencia de *G. lamblia* por grupos etarios



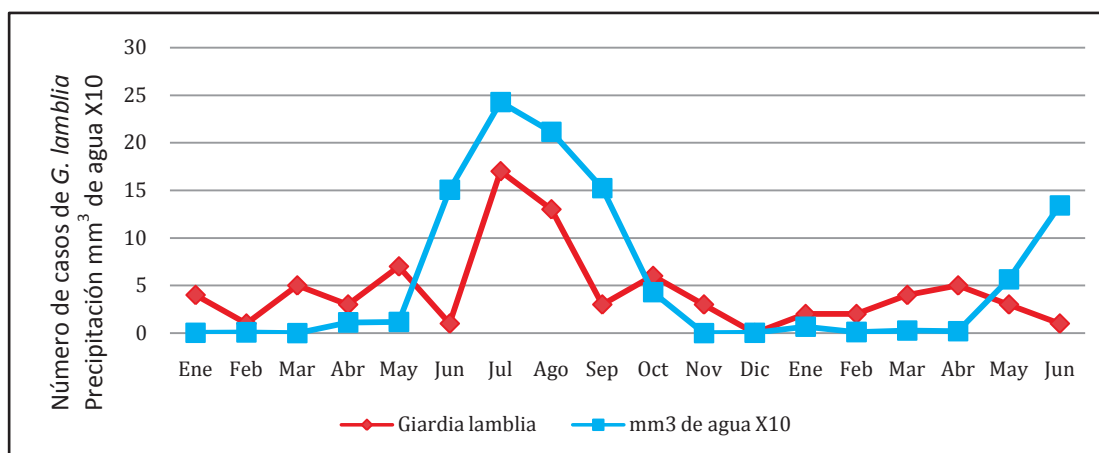
El sexo masculino fue el más afectado, siendo los pacientes afectados con *Giardia* 36% del sexo femenino y 64% del masculino, esto es, 2 niños afectados por cada niña. (Gráfico 5)

Gráfico 5: Distribución de *G. lamblia* por sexo



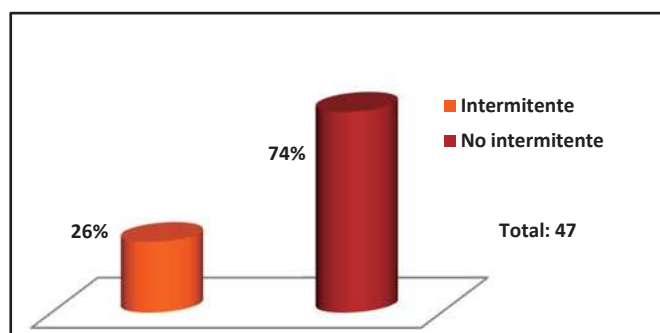
Aunque los casos de giardiosis se presentaron en todos los meses del año, se observó un aumento con la época de lluvia (Gráfico 6).

Gráfico 6: Estacionalidad de *Giardia*, curso temporal (meses) de la presencia de infecciones en relación a la precipitación fluvial.



La eliminación del parásito fue intermitente en 12 pacientes con muestras seriadas, es decir que solo se presentó el parásito en una o dos muestras; y continuas en 47 pacientes. (Gráfico 7)

Gráfico 7: Eliminación de *G. lamblia*



Los principales síntomas referidos por los niños fueron: dolor abdominal, plenitud abdominal y gases (Tabla 2), sólo los dos primeros tuvieron diferencia estadísticamente significativa. (gl1 p 0.05) (Tabla 3)

Tabla 2: Principales síntomas en los pacientes con *Giardiosis*

Síntomas	Total: 18 n	%
Cólicos/dolor	16	88.8%
Plenitud abdominal	15	83.3%
Flatulencia	13	72.2%
Heces blandas/ Diarrea	11	61.1%
Bruxismo	7	38.8%
Náusea	6	33.3%
Periodos de constipación	6	33.3%
Prurito anal	5	27.7%
Vómito	3	16.6%

Tabla 3: Valor de χ^2 (gl 1, p 0.05) al comparar los síntomas en muestras positivas y sin síntomas.

Síntomas	χ^2
Cólicos/dolor	4.77
Plenitud abdominal	5.8
Flatulencia	0.004
Heces blandas/ diarrea	0.143
Bruxismo	0
Náusea	0.445
Periodos de constipación	1.23
Prurito anal	0.32
Vómito	0.125

Los factores de riesgo relacionados a la parasitosis fueron: la falta de lavado de frutas (RR 2.25) y la convivencia con animales. (RR 1.7) (Tabla 4)

Tabla 4: Estimación del Riesgo Relativo (RR) en los factores de riesgo.

Factores de riesgo.	RR
No lavan las frutas	2.25
Convive con animales	1.7
Toma agua de la llave	1
No se lava las manos	1
Nivel de estudios de la madre	1
Come en la calle	0.6
Chupa dedos/muerde uñas	0.6
Material de la casa	0.5
No usa baño	0
Antecedente de arrojar lombrices	0

8.- DISCUSIÓN

En el presente trabajo se reportó a *Giardia* como el principal patógeno, datos similares fueron reportados por Nitin y colaboradores en la India, Pérez y colaboradores en Perú³⁸, Morales en Chiapas³³; así como Cedillo en Yucatán, México³⁵.

Se encontró asociado a otros parásitos en un 54.3% de los casos, datos similares fueron reportados por Bernal y colaboradores en el Hospital Infantil de México.²¹

Los niños preescolares (1 a 5 años) son los más afectados por este parásito, coincidiendo con Sagebiel y colaboradores en Berlín, Alemania⁴³ y Giraldo en Armenia, Colombia⁴⁴.

Se observó que en la infección por *Giardia* no existe diferencia en cuanto al sexo, datos similares son reportados por Giraldo y colaboradores en Colombia.⁴⁴

El protozooario fue observado en todos los meses del año, sin embargo se presentó un aumento de casos en la época de lluvia, ya que la vía de dispersión del mismo es el agua.⁴⁵

El síntoma más frecuente fue el dolor abdominal, coincidiendo con lo reportado por en Pakistán³⁶ y Colombia⁴⁴.

Con respecto a la asociación con otros organismos como *Helicobacter*, Abou Holw y colaboradores en un estudio en Egipto mencionan que los síntomas en pacientes con infecciones mixtas se agravan⁴⁶; sin embargo, en el presente estudio no se realizó la búsqueda de dichos microorganismos.

La eliminación del parásito fue diaria en un 74.5% de los niños, mientras que en el Hospital infantil de México la reportaron en un 36% de los casos²¹; en otro estudio realizado en Armenia, Colombia se recuperó al parásito en un 83%.⁴⁴

El factor de riesgo mayormente asociado fue la falta de lavado de frutas y verduras, así como la convivencia con animales; mientras que un estudio realizado en la India, Ajampur y colaboradores encontraron que el bajo nivel socioeconómico y deficiente sistema municipal de agua potable tuvieron mayor riesgo de infección.⁴⁰

9.- CONCLUSIONES

Giardia lamblia es el patógeno más frecuente en los niños que acuden al Hospital Infantil de Morelia, se encuentra asociado principalmente a *Blastocystis*.

Su frecuencia está relacionada con el índice fluvial aumentando en los meses de junio a octubre.

Siendo los escolares del sexo masculino los más afectados.

Su presencia está asociada a la falta de lavado de frutas y la convivencia con animales.

10.-RECOMENDACIONES:

Es importante iniciar campañas de prevención de parasitosis sobre todo en preescolares en lugares donde no es posible realizar un examen coproparasitológico. Los resultados obtenidos en este trabajo orientan al clínico a sospechar de casos de giardiasis en aquellos pacientes con dolor y plenitud abdominal, así como flatulencia.

11.- BIBLIOGRAFÍA

- (1) Rumheim F.A, Sánchez J., Requena I., Blanco Y., Devera R. **Parasitosis intestinales en escolares: relación entre su prevalencia en heces y en el lecho subungueal.** Rev. Biomed. 2005;16:227-237.
- (2) Comité de expertos de la OMS en Prevención y Control de Infecciones Parasitarias (Serie de informes técnicos, 749, Ginebra, Suiza) **Prevención y control de las infecciones parasitarias intestinales**, España, OMS, 1987;14:27-29
- (3) Díaz C.M.E., Ballesteros V.M.N., Pérez M.R., Mata H.V., **Impacto de la dieta sobre la inducción de infección con quistes de *Giardia lamblia* en ratas Sprague-Dawley.** Salud Publica Mex 2002;44:315-322
- (4) Alcaraz S.M.J. **Giardia y Giardiosis.** Control Calidad SEIMC. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset Aleixander, Valencia. 2002. Revisión Octubre 2009. http://www.seimc.org/control/revi_Para/Giardia.htm
- (5) Dueñas R.L., Arencibia D.A.A., Tomey M. O., **Detección de coproantígenos de *Giardia lamblia* mediante un sandwich ELISA estandarizado en Cuba.** MediCiego, Revista de la Salud en Ciego de Ávila. 2003; 9 (1). Revisión Noviembre 2009. http://bvs.sld.cu/revistas/mciego/vol9_supl1_03/articulos/a6_v9_supl103.htm
- (6) Aijaz, B., Beckman, T. J. **25-Year-Old Man With Abdominal Pain, Nausea, and Fatigue.** Mayo Clin Proc. 2007; 82: 359-362
- (7) Tay Z.J., Lara A.R., Velasco C.O., Gutiérrez Q.M. **Parasitología Medica** Méndez Edit. 2002; 87-93,
- (8) Morrison H.G., McArthur A.G., Gillin F.D., Aley S.B., Adam R.D., Olsen G.J., Best A.A., Cande W.Z., Chen F., Cipriano M.J., Davids B.J., Dawson S.C. **Genomic minimalism in the early diverging intestinal parasite *Giardia lamblia*.** Science. 2007; 317(5846):1921-6
- (9) Cacciò S.M., Sprong H., ***Giardia duodenalis*: genetic recombination and its implications for taxonomy and molecular epidemiology.** Exp Parasitol. 2010; 124(1):107-12.
- (10) Cacciò S.M., Ryan U., **Molecular epidemiology of giardiasis** Mol Biochem Parasitol. 2008; 160(2):75-80

- (11) Eligio G.L., Cortes C.A, Cota G.S., Gaxiola S., Jiménez C.E. **Frequency of *Giardia intestinalis* assemblages isolated from dogs and humans in a community from Culiacan, Sinaloa, Mexico using beta-giardin restriction gene.** Vet Parasitol. 2008; 156(3-4):205-9.
- (12) Steuart R.F., O'Handley R., Lipscombe R.J., Lock R.A., Thompson R.C; **Alpha 2 giardin is an assemblage A-specific protein of human infective *Giardia duodenalis*.** Parasitology. 2008; 135(14):1621-7
- (13) Franzén O, Jerlström-Hultqvist J, Castro E, Sherwood E, Ankarklev J, Reiner DS, Palm D, Andersson JO, Andersson B, Svärd SG. **Draft genome sequencing of *Giardia intestinalis* assemblage B isolate GS: is human giardiasis caused by two different species?** PLoS Pathog. 2009; 5(8):e1000560.
- (14) Singh A, Janaki L, Petri WA Jr, Houpt ER. ***Giardia intestinalis* assemblages A and B infections in Nepal.** Am J Trop Med Hyg. 2009; 81(3):538-9.
- (15) Elmer W., Konneman, Stephen D.A., William M.J., Paul C.S., Washington C.W., **Diagnostico Microbiologico Texto y Atlas a Color.** 2005. Buenos Aires: Panamericana
- (16) Hunter P.R., Thompson R.C., **The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*** Int J Parasitol. 2005;35(11-12):1181-90
- (17) Wolfe M.S. **Giardiasis.** Clin Microbiol Rev.1992; 5(1):93-100
- (18) Rivera M., Parte M.A, Hurtado P. **Giardiasis Intestinal.** Mini-Revisión. *Invest. clín*, 2002; 43(2):119-128.
- (19) Quihui C.L., Astiazarán G.H., Valencia M.E., Morales F.G.G., Lopez M.M.A., Vazquez O.F. **Impact of *Giardia intestinalis* on vitamin a status in schoolchildren from northwest Mexico.** Int J Vitam Nutr Res. 2008; 78(2):51-6.
- (20) Vasquez G.E.M., Romero V.E., Napoles R.F. *et al.* **Prevalencia de deficiencia de hierro y yodo, y parasitosis en niños de Arandas, Jalisco, México.** *Salud pública Méx*,2002; 44(3):195-200
- (21) **Diagnóstico de las infecciones gastrointestinales.** Publicación Técnica del InDRE. 1994: 471-472.
- (22) Kralisz M., Matowicka-Karna J. **Evaluation of morphological parameters of blood platelets in the course of giardiasis.** Pol Merkur Lekarski. 2008;25(150):480-3
- (23) Rossignol JF. ***Cryptosporidium* and *Giardia*: treatment options and prospects for new drugs.** Exp Parasitol. 2010; 124(1):45-53.

- (24) Selim S, Nassef N, Sharaf S, Badra G, Abdel-Atty D. **Copro-antigen detection versus direct methods for the diagnosis of *Giardia lamblia* in patients from the National Liver Institute.** J Egypt Soc Parasitol. 2009; 39(2):575-83.
- (25) Nitin S., Venkatesh V., Husain N., Masood J., Agarwal G.G., **Overview of intestinal parasitic prevalence in rural and urban population in Lucknow, north India.** J Commun Dis. 2007;39(4):217-23
- (26) Hamzé M., Naja M., Mallat H; **[Biological analysis of workers in the food sector in north Lebanon]** East Mediterr Health J. 2008;14(6):1425-34.
- (27) Al Kilani M.K., Dahesh S.M., El Taweel H.A. **Intestinal parasitosis in Nalout popularity, western Libya.** J Egypt Soc Parasitol. 2008;38(1):255-64
- (28) Al-Braiken F.A. **Is intestinal parasitic infection still a public health concern among Saudi children?** Saudi Med J. 2008; 29(11):1630-5.
- (29) Basso R.M., Silva R.R.T., Soligo D.S., Ribacki S.I., Callegari J.S.M., Zoppas B.C. **Evolution of the prevalence of intestinal parasitosis among schoolchildren in Caxias do Sul, RS] [Article in Portuguese]** Rev Soc Bras Med Trop. 2008;41(3):263-8
- (30) Korkes F., Kumagai F.U., Belfort R.N., Szejnfeld D., Abud T.G., Kleinman A., Florez G.M., Szejnfeld T., Chieffi P.P. **Relationship between Intestinal Parasitic Infection in Children and Soil Contamination in an Urban Slum.** J Trop Pediatr. 2008; 55(1):42-5
- (31) Jesen L.A., Marlín J.W., Dyck D.D., Laubach H.E. **Prevalence of multi-gastrointestinal infections with helminth, protozoan and *Campylobacter spp*, in Guatemala children.** J Infect Dev Ctries. 2009; 3 (3): 229-34
- (32) Jiménez J.C., Pinon A., Dive D., Capron M., Dei C.E., Convit J. **Antibody response in children infected with *Giardia intestinalis* before and after treatment with Secnidazole.** Am J Trop Med Hyg. 2009;80(1):11-5
- (33) Morales E.E. M., Sanchez P.H. J., Garcia G.I.L., *et al.* **Parasitosis intestinal en niños, en áreas de alta marginación socioeconómica de la región fronteriza de Chiapas, México.** Salud pública Méx. 2003; 45(5): 379-388
- (34) Larrosa H.A., Ruiz P.M., Aguilar B.S. **Utilidad del estudio de las heces para el diagnóstico y manejo de lactantes y preescolares con diarrea aguda.** Salud pública Méx. 2002; 44(4):328-334. ISSN 0036-3634.

- (35) Cedillo R.R., Leal Y.A., Yépez M.L., Gómez D.A., Ortega P.G., Tapia C.R., **Muñoz O. Seroepidemiology of giardiasis in Mexico.** Am J Trop Med Hyg. 2009; 80(1):6-1
- (36) Younas M., Shah S., Talaat A. **Frequency of *Giardia lamblia* infection in children with recurrent abdominal pain.** J Pak Med Assoc. 2008; 58(4):171-4
- (37) Kawano A., Ishikawa H., Yamamoto T., Otani T., Iishi H., Ishiguro S. **Investigation of the *Giardia lamblia* infection rate using whole gut lavage fluid** [Article in Japanese]. Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi. 2008; 105(11):1605-11
- (38) Pérez C.G., Cordova P.S.O., Vargas V.F., Velasco S.J.R., Sempere B.L., Sánchez M.M., Rosales M.J. **Prevalence of enteroparasites and genotyping of *Giardia lamblia* in Peruvian children.** Parasitol Res. 2008; 103(2):459-65.
- (39) Coles CL, Levy A, Dagan R, Deckelbaum RJ, Fraser D. **Risk factors for the initial symptomatic *Giardia* infection in a cohort of young Arab-Bedouin children.** Ann Trop Paediatr. 2009; 29 (4):291-300.
- (40) Ajjampur S.S., Sankaran P., Kannan A., Sathyakumar K., Sarkar R., Gladstone B.P., Kang G. ***Giardia duodenalis* assemblages associated with diarrhea in children in South India identified by PCR-RFLP.** Am J Trop Med Hyg. 2009;80(1):16-9
- (41) Mehraj V., Hatcher J., Akhtar S., Rafique G., Beg M.A. **Prevalence and factors associated with intestinal parasitic infection among children in an urban slum of Karachi.** PLoS ONE. 2008;3(11):e3680
- (42) Cifuentes E., Gomez M., Blumenthal U., Tellez R.M.M., Romieu I., Ruiz P.G., Ruiz V.S. **Risk factors for *Giardia intestinalis* infection in agricultural villages practicing wastewater irrigation in Mexico.** Am J Trop Med Hyg 2000; 62(3): 388-392.
- (43) Sagebiel D, Weitzel T, Stark K, Leitmeyer K. **Giardiasis in kindergartens: prevalence study in Berlin, Germany.** 2006. Parasitol Res. 2009; 105 (3):681-7.
- (44) Giraldo G., Jorge M. et al. **Prevalencia de giardiasis y parásitos intestinales en preescolares de hogares atendidos en un programa estatal en Armenia, Colombia.** Rev. salud pública [online]. 2005, vol.7, n.3 [cited 2010-02-20], pp. 327-338. Available from: http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-00642005000300008&lng=en&nrm=iso. ISSN 0124-0064. doi: 10.1590/S0124-00642005000300008

- (45) Solarte Y., Peña M., Madera C., **Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano.** *Corporación Editora Médica del Valle Colomb Med* 2006; 37: 74-82
- (46) Abou Holw SA, Anwar MM, Heshmat MG, Enany AY, Rashad MM. **Effect of concomitant *Helicobacter pylori* infection in patients with *Giardiasis lamblia* in Egypt.** *J Egypt Soc Parasitol.* 2009; 39(2):439-46.
- (47) Orozco M.G. E. **Manual de Procedimientos de Parasitología** Laboratorio de Investigación en Microbiología y Parasitología. *Hospital Infantil de Morelia "Eva Sámano de López Mateos". Secretaría de Salud de Michoacán* 2008:4-9
- (48) **Precipitación media estatal 2008 y 2009.** CONAGUA. <http://smn.cna.gob.mx/climatologia/climatologia.html>. Revisión Enero 2010
- (49) NAVONE, GRACIELA T et al. **Estudio comparativo de recuperación de formas parasitarias por tres diferentes métodos de enriquecimiento coproparasitológico.** *Parasitol. latinoam.* [online]. 2005, vol.60, n.3-4 [citado 2010-02-19], pp. 178-181. Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-77122005000200014&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0717-7712. doi: 10.4067/S0717-77122005000200014.

12.- ANEXOS

ANEXO 1: Indicaciones para coleccionar las muestras para COPROPARASITOSCÓPICO EN SERIE.

A) Pacientes foráneos.

Se requieren dos muestras con conservador y una fresca.

Se debe colocar un pedazo de excremento del tamaño de una nuez en el frasco con formol.

Homogeneizar perfectamente con ayuda del abate lenguas hasta dejar consistencia de un atole espeso.

Repetir el procedimiento hasta completar 2 muestras (de 2 días diferentes).

Para la recolección de la muestra fresca colocar un pedazo de excremento del tamaño de una nuez en un frasco limpio con tapa. Remitir al laboratorio antes de 24 horas de haber sido colectada, las muestras pueden ser obtenidas a cualquier hora del día, no deben extraerse de la taza del baño. No es necesario el ayuno.

Las muestras se reciben de 7:30 a 10:00 AM de lunes a viernes y los resultados se anexan al expediente a la 14:00 horas.

Si las muestras se entregan después de la 10:00 AM los resultados se anexan al expediente al día hábil siguiente a las 14:00 horas.

B) Pacientes locales.

Colocar un pedazo de excremento del tamaño de una nuez en un frasco limpio con tapa.

La muestra no debe extraerse de la taza del baño.

Remitir al laboratorio antes de 24 horas de haber sido colectada. La muestra puede ser obtenida a cualquier hora del día. No es necesario el ayuno.

Repetir el procedimiento hasta 3 muestras.

Las muestras se reciben de 7:30 a 10:00 AM de lunes a viernes y los resultados se anexan al expediente a la 14:00 horas.

Si las muestras se entregan después de la 10:00 AM los resultados se anexan al expediente al día hábil siguiente a las 14:00 horas.

SI TIENE ALGUNA DUDA, POR FAVOR COMUNIQUESE AL (443) 3122520 Y 3122521 EXT. 209

ANEXO 2: Encuesta.

A todos los pacientes de 0 a 15 años de edad con síntomas gastrointestinales remitidos del servicio de consulta externa del hospital con solicitud de examen coproparasitoscópico, se les aplicó una encuesta con consentimiento verbal del tutor.

Dicha encuesta contiene los siguientes datos: una columna designada para numerar a los pacientes, nombre completo, síntomas y factores de riesgo asociados:

Nota.- las letras y números que aparecen en cada columna son síntomas y factores de riesgo checar y ver lo que es en cada una de (a, b, c, s y n)

El llenado de la encuesta se realizo de acuerdo a la siguiente simbología, los síntomas se contestan: (s).- si (n).- no.

SÍNTOMAS

- 1.-PRURITO ANAL
- 2.-BRUXISMO
- 3.-CÓLICOS/DOLOR
- 4.-SENSACIÓN PLENITUD ABDOMINAL
- 5.-PERIODOS DE CONSTIPACION
- 6.-VÓMITO
- 7.-HECES “BLANDAS” Y O “DIARREICAS”
- 8.-FLATULENCIAS
- 9.-NAUSEA

FACTORES DE RIESGO

- 10.-Comer en la calle s.- si n.- no
- 11.-Tipo de sanitario a.- letrina b.-baño c.-suelo
- 12.-Material de la casa a.-tabique b.-adobe c.- lamina
- 13.-Convivencia con animales s.- si n.- no
- 14.-Conocimiento de helmintiasis s.- si n.- no
- 15.-Lava sus frutas y verduras s.- si n.- no
- 16.-Se chupa los dedos s.- si n.- no
- 17.-Higiene de manos s.- si n.- no
- 18.-Escolaridad del tutor a.- primaria b. secundaria c.- otros

Tabla 5: Encuesta

												BAÑO			come calle	Material			AGUA			convive con animales	Arroja lombricez	Lava frutas-verduras	Chupa dedos	Lava manos	Estudio de Mamá		
No.	Nombre	Edad	1	2	3	4	5	6	7	8	9	LT	B	S		T	A	L	LT	P	H/C						P	S	M

Tabla 6: Encuesta

						Síntomas			DX			Clasificación	
#	EXP	Nombre	Sexo	Edad	Domicilio	Diarrea	Dolor ab	Otros	DIREC	FOR	Zn	Unica	Mixta

ANEXO 3

A) Examen directo en fresco⁴⁷:

Material:

- Porta objetos 7.5 X 2.5 cm
- Cubre objetos 22 X 22 mm
- Aplicadores de madera
- Hisopos
- Pipeta Pasteur con bulbo de goma
- Parafina-vaselina 1:1

Reactivos:

- Solución salina isotónica 0.85% (ssi)
- Solución yodo-lugol
- Frasco con cloro para descartar el material.

Equipo de seguridad personal:

- Bata blanca limpia de manga larga
- Guantes de látex
- Cubreboca

Preparación de reactivos:

Solución de yodo lugol

- | | |
|---------------------|-----------|
| Yodo (cristales) | 5 gramos |
| Yoduro de potasio | 10 gramos |
| Agua destilada | 100 ml |
| Para uso diluir 1:5 | |

Equipo:

- Microscopio compuesto
- Parrilla eléctrica para derretir la parafina

Procedimiento

- 1.- Colocar 1 gota de solución salina isotónica ó yodo lugol en el centro del portaobjetos.
- 2.- Con el aplicador, tomar la muestra, calculando más o menos 1.5 a 2 mg. de heces y hacer una suspensión uniforme con la gota de ssi (solución salina isotónica) o yodo-lugol.
- 3.- Cubrir la preparación con el cubreobjetos
- 4.- Con un hisopo limpiar las orillas del cubre objetos para quitar el exceso de muestra.
- 5.- Sellar la preparación con parafina
- 6.- Observar al microscopio con objetivos 10X y 40X.

B) Método de concentración por sedimentación con formol-éter o técnica de Ritchie⁴⁷

Material:

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Tubos cónicos de 15 ml
- Pipeta pasteur con bulbo de goma
- Tapones de hule
- Pizeta con agua
- Vasos de plástico de 100 ml
- Embudos de plástico de 5 cm de diámetro
- Gasa en cuadros de 16X16 cm
- Abatelenguas de madera
- Hisopos
- Gradilla
- Parafina-vaselina 1:1

Reactivos:

- Solución de yodo-lugol
- Solución de formol al 10%
- Éter
- Frasco con cloro como desinfectante

Equipo:

- Microscopio compuesto
- Parrilla
- Centrifuga
- Vortex

Equipo de seguridad personal:

- Bata blanca limpia de manga larga
- Guantes de látex
- Cubrebocas

Procedimiento:

- 1.- Con un aplicador, tomar una muestra de heces de aproximadamente 1 ó 2 gramos y hacer una suspensión 3:1 en un vaso de plástico.
- 2.- Filtrar a través de gasa húmeda a un tubo cónico de 15 ml utilizando un embudo de plástico.
- 3.- Centrifugar el tubo a 2,500 rpm durante un minuto
- 4.- Descartar el sobrenadante.
- 5.- Añadir 10 ml de formol al sedimento y con ayuda de un aplicador agitar perfectamente la muestra y dejar reposar por 5 minutos.
- 6.- Agregar un ml de éter
- 7.- Tapar el tubo y agitar vigorosamente en el vortex durante 15 segundos.
- 8.- Retirar cuidadosamente el tapón del tubo cónico, realizando esto lejos de la cara.
- 9.- Centrifugar a 2,500 rpm por un minuto.
- 10.- Al final de la centrifugación se obtienen 4 capas: sedimento, formol, detritus y éter.
con un aplicador desprender el tapón de detritus de todo alrededor y decantar los sobrenadantes de un solo movimiento de tal manera que solo quede el sedimento.
- 11.- Con un hisopo limpiar las paredes del tubo cónico.

12.- Mezclar el sedimento con formol y con ayuda de una pipeta pasteur transferir el sedimento a un portaobjetos y agregar una gota de lugol, mezclar perfectamente y colocar un cubreobjetos.

13.- Con un hisopo limpiar el exceso de muestra alrededor del cubreobjetos.

14.- Sellar la preparación con parafina.

15.- Observar al microscopio examinando sistemáticamente la preparación, utilizando el objeto de 10x y posteriormente con el objetivo de mediana resolución para confirmar las estructuras de los quistes.

Las técnicas de sedimentación, se utilizan para la observación de quistes y ooquistes de protozoos, huevos y larvas de helmintos, pero la desventaja de estas técnicas consiste en que los preparados contienen más residuos que los procesados por flotación. En este caso, el éter se usa para extraer los residuos y las grasas de las heces y llevar los parásitos al fondo de la suspensión. Estas técnicas entonces son recomendadas por ser fáciles de realizar, tener baja probabilidad de errores técnicos y recuperar un amplio rango de organismos.^{37,47}

C) Método de concentración por flotación con sulfato de zinc o técnica de Faust⁴⁷.

Material:

- Portaobjetos 7.5X2.5 cm
- Cubreobjetos 22X22 mm
- Tubos de ensaye 13X100
- Pipetas pasteur con bulbo de goma
- Matraz Erlenmeyer 500 ml
- Probeta 1000 ml
- Pizeta con agua
- Vaso de plástico de 100 ml
- Embudos de plástico de 5 cm de diámetro
- Gasa en cuadros de 16X16 cm
- Abatelenguas de madera
- Aplicadores de madera
- Hisopos
- Asa bacteriológica con aro de 5mm de diámetro doblada con un ángulo de 90°
- Gradilla
- Parafina-vaselina 1:1

Reactivos:

- Solución de yodo-lugol
- Solución de sulfato de zinc, densidad 1,180
- Frasco con cloro para descartar el material

Preparación de reactivos:

Sulfato de zinc (densidad 1.18)

Sulfato de zinc	331 gramos
Agua destilada	1litro

Equipo:

- Microscopio compuesto
- Parrilla eléctrica
- Centrifuga
- Densímetro

Equipo de seguridad personal:

- Bata blanca limpia de manga larga
- Guantes de látex
- Cubreboca

Procedimiento:

- 1.- Con un aplicador, tomar una muestra de heces aproximadamente 1 gramo, hacer una suspensión 3:1 con agua en un vaso de plástico pequeño.
- 2.- Filtrar a través de gasa húmeda a un tubo de ensayo utilizando un embudo de plástico.
- 3.- Centrifugar el tubo a 2500 rpm durante un minuto.
- 4.- Descartar el sobrenadante.
- 5.- Añadir nuevamente agua al sedimento y con ayuda de un aplicador agitar perfectamente la muestra.
- 6.- Volver a centrifugar a 2500 rpm por un minuto.
- 7.- Descartar el sobrenadante.
- 8.- Al sedimento se agregan unos pocos mililitros de sulfato de zinc y agitar con un aplicador hasta suspender totalmente el sedimento, agregar más solución de sulfato de zinc hasta un centímetro abajo del borde del tubo de ensayo, sin dejar de agitar.
- 9.- Centrifugar a 2500 rpm durante un minuto.
- 10.- Sacar el tubo cuidadosamente de la centrífuga y colocarlo en la gradilla.
- 11.- Remover una o dos asadas de la película superficial y colocarlas sobre un portaobjetos, esterilizar el asa por flameo.
- 12.- Colocar una gota de yodo lugol.
- 13.- Colocar el cubreobjetos mezclando ambas gotas.
- 14.- Sellar la preparación con parafina.
- 15.- Observar al microscopio examinando sistemáticamente la preparación, utilizando el objetivo de 10X y confirmar con 40X.

Las técnicas de flotación permiten la separación de quistes de protozoos y huevos de ciertos helmintos del exceso de residuos mediante el uso de soluciones con elevada gravedad específica. Los elementos parasitarios son recuperados de la capa superficial y los residuos se mantienen en el fondo del tubo. Con estas técnicas los preparados son más limpios que los obtenidos por sedimentación. Sin embargo, algunos huevos (como los opérculados, o los densos como los estériles de *Ascaris lumbricoides*) no se concentran bien en las flotaciones; en estos casos se recomienda el uso de técnicas de sedimentación. ⁴⁹

D) Tinción tricrómica⁴⁷

Es un método rápido que da buenos resultados en los estudios ordinarios. Es sencillo, pues no es necesario sobreteñir y luego aclarar para que resalten los detalles morfológicos de los parásitos. Tampoco hace falta el mordiente antes de la tinción. Pero para fines prácticos, el aclaramiento de los frotis da mejores resultados, y es preferible incluirlo. La solución colorante es estable y puede utilizarse varias veces, sustituyendo el volumen perdido por la solución madre. Sin embargo, si se tiñen más de 15 frotis al día (en 50 ml), el colorante tiende a perder su fuerza. Si la solución colorante se evapora dejándola destapada durante 3 a 8 horas, recobra las cualidades perdidas. Esto puede lograrse quitando la tapa de la caja de tinción durante la noche. La principal diferencia entre la tinción de materias frescas y fijadas con PVA es que éstas necesitan más tiempo, omitiéndose además la fijación, pues la solución PVA ya realizó esta función.

Preparación de reactivos:

Fijador de Schaudinn

Cloruro de mercurio	4.5 gramos
Alcohol etílico 95%	31 ml
Ácido acético glacial	5 ml

- 1.- Disolver el cloruro de mercurio en el alcohol en un frasco con tapadera.
- 2.- Agitar a intervalos.
- 3.- Añadir el ácido acético, tapar el frasco y mezclar por agitación.

Colorante tricrómico

Cromotropo 2R	0.6 gramos
Verde claro SF	0.15 gramos
Verde rápido FCF	0.15 gramos
Acido fosfotungstico	0.7 gramos

Ácido acético glacial	0.95 ml
Agua destilada	100 ml

- 1.- Colocar los colorantes secos en un matraz.
 - 2.- Añadir el ácido acético.
 - 3.- Agitar para mezclar.
 - 4.- Dejar reposar la muestra (madurar) durante 30 minutos.
 - 5.- Poner el agua destilada, agitar hasta mezcla completa.
- Un buen colorante tiene un color púrpura intenso, casi negro.

Alcohol ácido al 90% acidificado

Alcohol 99.8%	89.7 ml
Acido acético	0.45 ml
Agua	9.86 ml

Carbol-xilol

Fenol líquido	1 parte
Xilol	3 partes

Técnica de tinción con muestras frescas⁴⁷

- | | |
|--|--|
| 1.-Fijador de Schaudinn | 5 minutos a 50°C, 1 hora a temperatura ambiente |
| 2.-Alcohol al 70% con yodo | 1 minuto |
| 3.-Alcohol al 70% | 1 minuto |
| 4.-Alcohol al 70% | 1 minuto |
| 5.-Colorante tricrómico | 2 a 8 minutos |
| 6.-Alcohol al 90% acidificado | 10 a 20 segundos, o hasta que el frotis ya casi no pierda colorante. |
| 7.-Alcohol al 95% | Enjuagar dos veces |
| 8.-Carbol xilol | 1 minuto |
| 9.-Xilol | 1 minuto |
| 10.-Se monta con un cubreobjetos, empleando resina sintética u otro medio semejante. | |

E) Tinción de Kinyoun⁴⁷

Material:

-Portaobjetos 7.5 x2.5 cm.
-Aplicadores de madera
-Pipetas pasteur con bulbo de goma

Reactivos:

-Carbol-Fucsina
-Acido al 10%
-Verde brillante al 1%

Preparación de Reactivos:

Carbol-fucsina

Fucsina básica	1 gramo
Etanol	10 ml
Fenol	5 ml
Agua cbp	100 ml

- 1.- Fundir el fenol, agregar la fucsina.
- 2.- Homogeneizar en baño maría a 60°C, sacar la mezcla del baño.
- 3.- Agregar el etanol, agitar 5 minutos.
- 4.- Adicionar el agua.
- 5.- Dejar en baño maría 15 minutos para completar la homogenización.
- 6.- Almacenar en frasco oscuro con tapón esmerilado.

Alcohol-ácido

Ácido sulfúrico	10 ml
Etanol cbp	100 ml

Verde brillante 1%

Verde brillante	1 gramo
Agua cbp	100 ml

Equipo:

-Microscopio compuesto

Procedimiento:

- 1.- Elaborar un frotis de materia fecal con ssi, dejar secar.
- 2.- Fijar con material y al calor.
- 3.- Cubrir la preparación con fucsina básica por 3 minutos. Evitar que la preparación se seque.
- 4.- Enjuagar suavemente con agua la llave.
- 5.- Decolorar con alcohol ácido al 10% por 5 segundos.
- 6.- Colocar verde brillante al 1% por 30 segundos
- 7.- Lavar con agua y dejar secar
- 8.- Observar a inmersión

F) Micrometría⁴⁷

Calibración del microscopio. Medición microscópica de parásitos y sus productos.

La medición de los parásitos y sus productos es un recurso valioso para precisar el tamaño de los huevos y de los parásitos en sus estadios de su evolución y permite una mejor diferenciación de ellos y un adecuado diagnóstico. Se puede realizar con un micrómetro ocular u ocular micrométrico y el micrómetro objetivo.

Principio:

Los micrómetros oculares están grabados con una escala fija que consiste en 50 líneas paralelas. Cada división del micrómetro ocular representa diferentes medidas según el poder de resolución del juego de objetivos utilizados en un microscopio compuesto, por lo tanto para cada juego de oculares y objetivos utilizados, la escala ocular se debe comparar con una escala calibrada conocida. Es importante recordar que una vez efectuada la calibración con un determinado juego de oculares y objetivos, éstos no pueden ser intercambiados con los componentes correspondientes de otro microscopio.

Coeficiente micrométrico:

Es una cifra que expresa la equivalencia en micras de una división de la escala del micrómetro ocular al emplear cada objetivo del microscopio. Suele denominarse “factor” y la operación para obtenerlo “calibración del microscopio”. El coeficiente micrométrico es inversamente proporcional al poder de amplificación de los objetivos utilizados. Habitualmente se obtienen 3 coeficientes micrométricos para cada

microscopio usando un solo ocular micrométrico y los objetivos 10X y 45X (seco débil y seco fuerte) y de 90X o 100X (de inmersión), pero puede hacerse cualquier combinación de ocular y objetivo. Para obtener el coeficiente micrométrico hay que seguir la siguiente técnica.

Materiales:

Micrómetro ocular de escala fija. Es un pequeño disco de vidrio de 12 mm de diámetro, en el cual puede verse grabada una escala de mm, dividida en 50 partes y generalmente numerada de 10 en 10. Este disco se coloca sobre el diafragma de cualquier ocular, transformándolo así en ocular micrométrico. Cada división de esta escala mide 100 μm .

Ocular micrómetro de platina con divisiones de 0.1 y 0.01 mm. Es esencialmente similar al micrómetro, pero la lente va montada sobre un corto tubo que puede acortarse o alargarse a voluntad por deslizamiento en el tubo externo, permitiendo así enfocar con toda precisión la escala micrométrica intercalada en él.

Micrómetro objetivo. Es un portaobjetos en cuyo centro se halla grabada una escala de 1 o 2 mm, dividida en 100 o 200 partes, cada división mide 10 μm .

Microscopio compuesto estándar.

Procedimiento:

- 1.-Retirar el ocular del microscopio. Si se utiliza un microscopio binocular, se acostumbra a retirar el ocular X10 derecho.
- 2.-Desenroscar la lente superior del ocular e insertar la oblea del micrómetro de modo que se apoye en el anillo del diafragma dentro del ocular. Colocar el micrómetro con el lado grabado hacia abajo. El micrómetro se manipula con paño para lentes y se debe evitar por todos los medios que algún hilo quede adherido a la superficie.
- 3.-Reinsertar el ocular. Al observar a través del ocular, la escala del micrómetro aparece como una serie de divisiones alineadas.
- 4.-Colocar el micrómetro de platina bajo el objetivo del microscopio que se ha de calibrar. Enfocar la escala del micrómetro de platina que se ve como una serie de divisiones de 0.1 y 0.01 mm.

5.-Ajustar el micrómetro de platina de modo que la línea "0" de la escala del micrómetro ocular se superponga exactamente con la línea "0" de la escala del micrómetro de platina.

6.-Sin efectuar ninguna otra manipulación, observar ambas escalas y hallar el próximo par de líneas que coincidan exactamente.

Cálculos:

El objeto de la calibración es determinar cuánto mide en μm cada división de la escala ocular cuando se calibra contra la escala del micrómetro objetivo. Por ejemplo, si 40 unidades de la escala ocular equivalen a 0.09 mm de la escala del micrómetro de la platina y cada división del ocular es igual a $0.09 \text{ mm}/40$, o sea 0.00225 mm. Dado que hay 1000 μm en cada milímetro, cada división del micrómetro ocular en la calibración ilustrada es igual a 0.00225×1000 o sea 2.25 μm . Este mismo cálculo sirve para calibrar cualquier juego de oculares y objetivos, sustituyendo los números adecuados.