

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE MEDICINA

COMISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

CURSO DE ESPECIALIZACION EN PEDIATRÍA Y PUERICULTURA

HOSPITAL DE NIÑOS J.M. DE LOS RÍOS

INFECCIÓN POR Giardia intestinalis

COPROANALISIS DIRECTO VERSUS INMUNOCROMATOGRAFÍA

Trabajo Especial de Grado que se presenta para obtener el título de Especialista en Pediatría y Puericultura

Caracas, abril 2010

León María

Moreno Juan

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COMISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
Unidad Control de Estudios



VEREDICTO

Quienes suscriben, Miembros del Jurado Examinador designado por el Consejo de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela para Examinar el Trabajo Especial de Grado (T.E.G.) titulado: "INFECCIÓN POR *Giardia intestinalis* COPROANALISIS DIRECTO VERSUS INMUNOCROMATOGRAFÍA", presentado por la Médica Cirujana, **MARÍA FELICIA LEÓN**, Titular de la Cedula de Identidad N° V-14.666.933 a los fines de cumplir con el requisito legal para optar al Título Universitario de Especialista en **PEDIATRIA Y PUERICULTURA**, dejan constancia de lo siguiente:

Leído como fue dicho trabajo por cada uno de los Miembros del Jurado, éste se fijó el día **06 de Diciembre de 2010**, a las **11:00 a.m. de la mañana**, para que la autora lo defendiera en forma pública, tal como esta previsto en las Normas y Procedimientos para la elaboración y aprobación del T.E.G. de los Cursos de Especialización de la Facultad de Medicina", lo que el aspirante hizo en el **Salón De Usos Múltiples Dr. "Pastor Oropeza", Cátedra de Pediatría, Hospital de Niños "J.M. de los Ríos"**, ubicado en la Avenida Vollmer de San Bernardino, Caracas, Venezuela, mediante una exposición oral de su contenido durante **45 minutos**, luego de lo cual respondió satisfactoriamente a las preguntas que le fueron formuladas por los Miembros del Jurado durante **45 minutos**, habiendo concluido la discusión del trabajo a las **12:30 PM**

Finalizada la defensa pública del trabajo, el Jurado decidió por mayoría absoluta **APROBAR**, por considerar, sin hacerse solidario con las ideas expuestas por el autor, que se ajusta a lo dispuesto y exigido en las normas antes mencionadas.

Para dar este Veredicto el Jurado estimó que la obra examinada: **Tiene una importancia relevante en el diagnóstico de las parasitosis, enfermedad frecuente en la población pediátrica por lo que se recomienda su publicación**

En fe de lo cual se levanta y firma la presente acta en la ciudad de Caracas, a los **06 días** del mes de Diciembre del año 2010.

DRA. KAROLINA LÓPEZ
Tutor-Coordinador

DRA. GLORIA GONZÁLEZ
Miembro Principal

DRA. AMELIA SARMIENTO
Miembro Principal

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COMISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
Unidad Control de Estudios



VEREDICTO

Quienes suscriben, Miembros del Jurado Examinador designado por el Consejo de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela para Examinar el Trabajo Especial de Grado (T.E.G.) titulado: "INFECCIÓN POR *Giardia intestinalis* COPROANALISIS DIRECTO VERSUS INMUNOCROMATOGRAFÍA", presentado por la Médica Cirujana, JUAN JOSÉ MORENO, Titular de la Cedula de Identidad N° V-15.243.140a los fines de cumplir con el requisito legal para optar al Título Universitario de Especialista en PEDIATRIA Y PUERICULTURA, dejan constancia de lo siguiente:

Leído como fue dicho trabajo por cada uno de los Miembros del Jurado, éste se fijó el día **06 de Diciembre de 2010**, a las **11:00 a.m. de la mañana**, para que la autora lo defendiera en forma pública, tal como esta previsto en las Normas y Procedimientos para la elaboración y aprobación del T.E.G. de los Cursos de Especialización de la Facultad de Medicina", lo que el aspirante hizo en el **Salón De Usos Múltiples Dr. "Pastor Oropeza"**, **Cátedra de Pediatría, Hospital de Niños "J.M. de los Ríos"**, ubicado en la Avenida Vollmer de San Bernardino, Caracas, Venezuela, mediante una exposición oral de su contenido durante **45 minutos**, luego de lo cual respondió satisfactoriamente a las preguntas que le fueron formuladas por los Miembros del Jurado durante **45 minutos**, habiendo concluido la discusión del trabajo a las **12:30 PM**

Finalizada la defensa pública del trabajo, el Jurado decidió por mayoría absoluta **APROBAR**, por considerar, sin hacerse solidario con las ideas expuestas por el autor, que se ajusta a lo dispuesto y exigido en las normas antes mencionadas.

Para dar este Veredicto el Jurado estimó que la obra examinada: **Tiene una importancia relevante en el diagnóstico de las parasitosis, enfermedad frecuente en la población pediátrica por lo que se recomienda su publicación**

En fe de lo cual se levanta y firma la presente acta en la ciudad de Caracas, a los **06 días** del mes de Diciembre del año 2010.

DRA. KAROLINA LÓPEZ
Tutor-Coordinador

DRA. GLORIA GONZÁLEZ
Miembro Principal

DRA. AMELIA SARMIENTO
Miembro Principal

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a Dios Todopoderoso y a la Santísima Virgen, por mantenernos firmes en nuestra voluntad de continuar a pesar de la adversidad.

A nuestros padres por apoyarnos en todo momento a lo largo de este recorrido y sobre todo por creer en nosotros.

A la Dra Karolina López, tutora del trabajo, por su enorme paciencia, sabios consejos y colaboración.

Al Dr Juan Carlos Jiménez, inmunólogo, y coordinador docente del postgrado de inmunología clínica de La Universidad Central de Venezuela, por su excelente asesoría. Al instituto de inmunología de la Universidad Central de Venezuela.

Al Licenciado Douglas Angulo, por su valiosa contribución a la finalización de este trabajo.


Al personal del laboratorio central, y en particular a la Sra. Rosa y Sra. Marilyn por su valiosa ayuda y colaboración.

A todos y cada uno de los pacientes que día a día asisten al hospital, y permiten nuestro aprendizaje.

A todos


¡Gracias!

TUTOR: Dra. Karolina López



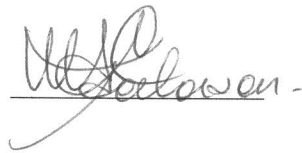
A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Karolina López', written over a horizontal line.

DIRECTOR DEL CURSO: Dra Olga Figueroa



A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Olga Figueroa', written over a horizontal line.

COORDINADOR DEL CURSO: Dra Morella Salazar



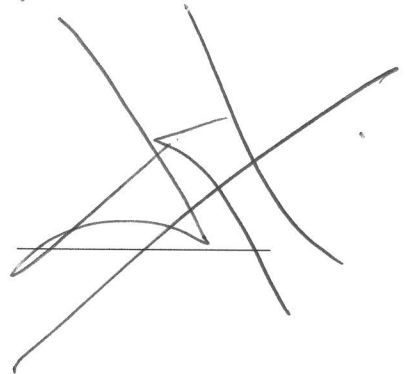
A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Morella Salazar', written over a horizontal line.

ASESOR CLÍNICO: Dr. Juan Carlos Jiménez



A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Juan Carlos Jiménez', written over a horizontal line.

ASESOR ESTADÍSTICO Lic. Douglas Angulo



A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Douglas Angulo', written over a horizontal line.

INDICE DE CONTENIDOS

CAPITULO	PÁGINA
INTRODUCCION.....	2
METODOS.....	23
RESULTADOS.....	28
DISCUSION.....	38
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	45
REFERENCIAS.....	48
ANEXOS.....	58

RESUMEN

Introducción: *Giardia intestinalis* es el protozoo patógeno más común en el ser humano, y su presencia se relaciona con las condiciones socio sanitarias de la población. Ante la complejidad para su diagnóstico parasitológico, se han desarrollado técnicas no invasivas para la detección del parásito en heces, con alta sensibilidad y especificidad. **Objetivo:** el propósito de esta investigación fue evaluar el test inmunocromatográfico RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi, como método para el diagnóstico de giardiosis. **Métodos:** se realizó el análisis coprológico directo y la prueba RIDA, a las muestras de heces de 65 niños procedentes del Servicio de Consulta Externa-Triaje del Hospital de Niños “JM de los Ríos”, Caracas, Venezuela, en el período comprendido entre septiembre y noviembre de 2009. **Resultados:** De 65 pacientes, 18 fueron positivos para *Giardia intestinalis* (27,7%). De este grupo, 12 fueron diagnosticados a través del coproanálisis directo (18,5%) y la prueba RIDA, identificó la totalidad de casos positivos. La diferencia entre la respuesta de la prueba RIDA y del coproanálisis directo en la detección de *Giardia intestinalis* en heces, fue estadísticamente significativa ($p=0,031$). La sensibilidad fue de 100%, y la especificidad de 88,7%. El valor predictivo positivo fue de 66,7% y el valor predictivo negativo fue de 100%. **Conclusión:** la prueba inmunocromatográfica RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi constituye un método confiable para el diagnóstico parasitológico de *Giardia intestinalis*, e ideal como complemento del coproanálisis directo cuando solo es posible analizar una sola muestra de heces.

Palabras clave: *Giardia intestinalis*, coproanálisis directo, inmunocromatografía

INTRODUCCION

La enfermedad diarreica constituye un importante problema de salud pública y representa la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años a nivel mundial (1-5) Afecta fundamentalmente a los habitantes de países en vías de desarrollo, en virtud de las precarias condiciones higiénicas y sanitarias, inadecuada dotación de agua potable, pobreza, y del bajo nivel educativo (1-4). Sin embargo, aunque las tasas de mortalidad por diarreas de origen infeccioso han disminuido en países desarrollados, aún prevalecen cifras importantes de morbilidad y los costos asociados por ello (1-2).

Entre las enfermedades infecciosas, la diarrea produce un gran impacto y compromiso de la salud del niño, debido a que se modifican los esquemas de alimentación, y se reduce la absorción de nutrientes; aunado al hecho de que afecta fundamentalmente a niños entre los 0 y 2 años de edad (1-3). En los primeros seis meses de vida puede ocasionar una alteración importante del patrón de crecimiento, distinta a la ocurrida en el contexto de otros procesos infecciosos y a edades más avanzadas (1).

En el año 2000, se estimó una cifra global de 1500 millones de episodios de diarrea, en menores de 5 años de edad. En los países subdesarrollados, la incidencia media anual de las diarreas de origen infeccioso en niños menores de 3 años es de 3 episodios (1-2), mientras que en Europa la incidencia tiene un rango aproximado de 0,5 a 1,9 episodios en niños menores de 3 años y en Los Estados Unidos de Norteamérica un promedio de 1,4 episodios. La más alta incidencia se registra en los dos primeros años de vida, con un pico entre los 6 y 17 meses de

edad, y en el sexo masculino es ligeramente más alta que en el femenino (1-2). Para el año 2002, en La Región de Las Américas, se registraron alrededor de 57.000 muertes por enfermedad diarreica aguda (6) y a nivel mundial, alrededor de 1 de cada 5 muertes infantiles es debida a diarrea (3-4).

En Venezuela, para el período 2004-2008, el sistema de vigilancia epidemiológica nacional registró un acumulado de 10.354.557 episodios. Los niños menores de un año fueron los más afectados. En el año 2008 se notificaron 1.768.509 casos de diarrea para todas las edades, con un 40% en menores de 5 años. El número de muertes registradas por enfermedad diarreica en menores de cinco años en el período comprendido entre el año 2000 al 2007 fue de 9.331 defunciones, lo que represento el 65% del total de muertes ocurridas en el país por esta causa; del total de fallecidos 43% fueron niños menores de un año. No obstante, la tasa de afectación ha disminuido en este grupo de edad pasando de 168,6 a 68,3 por 100.000 habitantes, manteniéndose como la tercera causa de muerte en el mismo. En orden decreciente los estados con mayores defunciones son Delta Amacuro, Miranda, Amazonas, y Zulia, los cuales se caracterizan por tener grandes poblaciones indígenas, zonas rurales, hoyas hidrográficas importantes y debilidades en la distribución y accesibilidad a los servicios de salud (1).

Si bien los estudios epidemiológicos indican que el mayor número de casos de diarrea son de origen viral, las parasitosis intestinales también producen un gran impacto en la salud, y constituyen una importante causa de enfermedad diarreica y de morbilidad infantil. Se estima que a nivel mundial más del 30% de estos casos, son debidos a parásitos (7). *Giardia intestinalis* es el

protozooario patógeno más común en el ser humano, y forma parte del grupo de enteropatógenos que con mayor frecuencia ocasionan enfermedad gastrointestinal (8-9). La Organización Mundial de la Salud en el año 2000 reporto 200 millones de personas con giardiosis entre África, Asia y América Latina, y una incidencia de 500.000 casos por año en estas regiones (10-11). Tiene una baja prevalencia en países desarrollados (2-5%), pero llega hasta un 20-30% en los países en vías de desarrollo (1-2).

Giardia intestinalis es un parásito ubicuo y su distribución abarca desde los trópicos hasta el Ártico (9-11), incluso se han informado brotes de tipo epidémico en Japón y en ciudades como Leningrado y Roma (9). En diversas localidades de Los Estados Unidos de Norteamérica, se han demostrado tasas de prevalencia de este microorganismo en materia fecal que varían del 1-20%. En el año 2005 el número de casos reportados fue de 20.075, por lo que constituye el enteroparásito de mayor frecuencia en ese país así como en Canadá (9, 12,13). En Colombia, según cifras del año 2000, la prevalencia es del 12% en la población general, y del 28% en niños de 1 a 4 años de edad (12). En México, la periodicidad de esta parasitosis es muy variable, debido a que las cifras fluctúan entre 2-39% con una distribución por grupos de edad de 22% en recién nacidos, 30% en preescolares, y 20% en escolares. Se calcula que existen nueve millones de personas infectadas, lo que también convierte a esta protozoariosis en la parasitosis intestinal más frecuente en ese país (9).

Venezuela no se escapa de esta realidad, sin embargo, los registros estadísticos sobre incidencia y prevalencia de esta entidad nosológica son escasos. Es el protozooario patógeno de

mayor prevalencia en el país, y se ha reportado una frecuencia general del 21% (7). En el estado Zulia, Freites y colaboradores, en el año 2009, reportaron una prevalencia de 48,7% para las parasitosis intestinales, encontrándose como microorganismo patógeno más frecuente a *Giardia intestinalis* con un 13,4% de frecuencia. (15). Leal y colaboradores, en el año 2008, reportaron una prevalencia de 18-45% (14). En este mismo estado Rivero y colaboradores, también en la ciudad de Maracaibo en el año 2007, reportaron a *Giardia intestinalis* con un 25,9% de frecuencia en escolares con edades comprendidas entre 5 y 10 años de edad. (16).

Dávila y colaboradores, en Mérida, en el año 2006, reportaron a *Entamoeba histolytica* con un 49,1%, *Blastocystis hominis* con un 32,5%, y *Giardia intestinalis* con un 18,2% de frecuencia, como los parásitos con mayor incidencia. (17). Datos opuestos fueron informados por Cortez y Freites, en Carabobo, en el año 2005 con una incidencia para *Giardia intestinalis* de 6,20% (18).

Con lo expuesto anteriormente, se evidencia que la incidencia y prevalencia de *Giardia intestinalis* tienen gran variabilidad, incluso entre comunidades con un contexto socio sanitario similar (8).

Formulación y delimitación del problema

Es conocida la dificultad que existe para el diagnóstico parasitológico de la giardiosis con un solo examen coprológico, que detecta únicamente el 9% de los casos, comparado con exámenes seriados donde la positividad se eleva a 57% (8). Está establecido que en todas las técnicas de examen coproparasitológico por microscopía el rendimiento mejora si se examinan varias muestras, al menos tres por cada paciente obtenidas en días alternos, debido a que los quistes del parásito que constituyen su forma infectante, se eliminan de forma irregular y una sola muestra de heces puede ser insuficiente. Sin embargo, este procedimiento resulta impráctico e incomodo para el paciente y aún con exámenes seriados dejan de diagnosticarse el 50% de los casos auténticos (8, 9, 19).

Para el diagnóstico en materia fecal formada el examen coproscopico con lugol, y los métodos de concentración tales como el método de flotación de Faust y el de sedimentación de Ritchie, resultan útiles para identificar formas quísticas (20). En caso de que exista diarrea la mejor opción es realizar un examen directo en fresco para la búsqueda de trofozoitos, sin embargo, para que este estudio proporcione resultados satisfactorios es conveniente examinar la muestra de materia fecal dentro de las dos primeras horas siguientes a su emisión. Una de las limitaciones de este método es que la muestra utilizada generalmente es de escasa cuantía por lo que este estudio tiene poca sensibilidad; aun así no se excluye del protocolo para el diagnóstico de giardiosis (8).

Cuando hay sospecha clínica de esta parasitosis pero no se identifica el microorganismo en exámenes reiterados de materia fecal, puede recurrirse a otras técnicas para identificar al parásito, todas con alta sensibilidad y especificidad, pero costosas, invasivas y difíciles de realizar. El examen del contenido duodenal obtenido por aspiración directa o por prueba de la cuerda, mejor conocido como Enterotest, puede ser diagnóstico, con este método se alcanza un 80-90% de sensibilidad (8). La biopsia de duodeno para estudio anatómico-patológico, permite realizar cortes tisulares con el fin de identificar el parásito y otros enteropatógenos, y observar cambios histológicos. Se debe considerar una biopsia de intestino delgado en los pacientes que presenten síntomas clínicos característicos, con resultados negativos en el examen de heces y alguna de las siguientes situaciones: hallazgos en el tránsito intestinal de enteropatía inflamatoria, con o sin malabsorción, resultado anómalo de la prueba de hidrógeno espirado en aliento, déficit selectivo de Inmunoglobulina A secretora, hipogammaglobulinemia, aclorhidria, entre otras (8,21). El análisis de la muestra de yeyuno obtenida a través de la sonda de Watson y Crosby tiene una sensibilidad del 95% (8)

La evaluación microscópica de las heces es considerada como el *gold standard* o patrón de oro para el diagnóstico microbiológico de la infección por *Giardia intestinalis* en la mayoría de las situaciones, en virtud de su disponibilidad en los laboratorios, costos e inocuidad (19-22). Sin embargo, el examen directo de materia fecal implica un análisis minucioso de la muestra, requiere de personal calificado, y en algunas circunstancias no se logran diagnosticar todos los casos, en vista de que este no es lo suficientemente sensible para detectar una baja carga parasitaria. Es por ello que se han desarrollado métodos inmunológicos para la determinación de

antígenos de este protozooario en extracto fecal como alternativa, con una sensibilidad y especificidad superior al 90% (21).

El desarrollo de estas técnicas se inició con el propósito de facilitar el diagnóstico de gran parte de las enfermedades infecciosas y su fundamento se basa en la afinidad antígeno-anticuerpo (23). Desde su descubrimiento a finales del siglo XIX, los anticuerpos han sido considerados moléculas con gran potencialidad analítica. Sin embargo, fue después de la introducción por Georges Köhler y César Milstein en 1975 de la técnica para producir in vitro anticuerpos monoclonales o de alta especificidad, que se reconoció la versatilidad práctica de los mismos. Sus primeras aplicaciones en el área clínica se hicieron entre finales de la década de los setenta y principio de los ochenta en la realización de pruebas de histocompatibilidad, reconocimiento de moléculas de diferenciación en células normales o tumorales, y de epítopes específicos en virus, bacterias, parásitos y otros microorganismos (24).

Para la detección de antígenos de *Giardia intestinalis* en heces, las técnicas inmunológicas estandarizadas son la inmunofluorescencia directa, el enzimoimmunoensayo (prueba ELISA), y la inmunocromatografía (23). La ventaja de estas es que tienen un nivel de sensibilidad y especificidad adecuado, y no son invasivas; no obstante ello en países como Venezuela su uso generaría un incremento del presupuesto destinado para el sector salud.

Las pruebas de inmunofluorescencia directa se basan en la adición de anticuerpos específicos marcados con una sustancia fluorescente, a una muestra biológica determinada. La

lectura de los resultados se realiza por observación al microscopio de fluorescencia de los microorganismos o células infectadas, sobre un fondo oscuro (23). En los ensayos inmunoenzimáticos, la detección del antígeno tiene lugar sobre placas de poliestireno, donde los anticuerpos específicos están fijados sobre la superficie de los pocillos. Estos anticuerpos, retienen a los antígenos que contiene la muestra, y su presencia se revela mediante la utilización de un segundo anticuerpo específico, conjugado a una enzima. Esta enzima provoca un cambio de color al interaccionar con el sustrato específico. A mayor intensidad del color, mayor cantidad de antígeno fijado al pocillo (23) (Ver anexo #1).

La inmunocromatografía es una de las técnicas de inmunodiagnóstico más modernas. Las pruebas para el diagnóstico de *Giardia intestinalis* basadas en este método, precisan una menor cantidad de muestra, requieren de un entrenamiento sencillo del personal que la va a realizar, y sus resultados pueden estar disponibles en pocos minutos, motivos por los que su aplicación en la detección de protozooario supone grandes ventajas (25-26).

El fundamento de esta técnica se basa en el uso de anticuerpos monoclonales específicos contra diferentes epítopes de un antígeno en particular. La tira de prueba esta dividida en tres zonas específicas, denominadas zona de conjugado, captura y control. La zona de conjugado, esta impregnada por un complejo constituido por un anticuerpo específico contra uno de los epítopes del antígeno a determinar, y un reactivo de detección. Si la muestra contiene el antígeno en estudio, esta se unirá al complejo mencionado, y migraran a través de una membrana de nitrocelulosa hacia la zona de captura, en la que se encuentra un segundo anticuerpo específico

contra otro epítipo del antígeno. Una vez allí, el complejo antígeno-anticuerpo específico-reactivo de detección, quedara retenido junto al segundo anticuerpo, y la línea correspondiente a la zona de captura se coloreara, interpretándose la reacción como positiva; si la muestra no contiene el antígeno problema, el segundo anticuerpo no se unirá a ningún complejo y la línea de captura quedara transparente, en este caso el resultado se interpreta como negativo. En la zona de control se encuentra un tercer anticuerpo que reconoce el reactivo de detección. Cuando el resto de la muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al complejo libre que no quedo retenido en la zona de captura. La banda correspondiente a la zona de control se coloreara con muestras positivas y negativas indicando el adecuado funcionamiento del ensayo (27) (Ver anexo #2).

Existen en el mercado varias pruebas inmunocromatograficas comerciales para la detección de antígenos *Giardia intestinalis* en heces: InmunoCard STAT!® de Meridian, SIMPLE-READ Giardia de Medical Chemical Corporation, RIDA® Quick Giardia de R-Biopharm, y pruebas combinadas para la determinación de antígenos de Giardia y *Cryptosporidium* sp: InmunoCard STAT!® Giardia/*Cryptosporidium* de Meridian, ColorPac®, y RIDA® Quick *Cryptosporidium*/Giardia combi de R-Biopharm (23).

En el mismo orden de ideas, de manera específica se hará mención de la prueba RIDA® Quick *Cryptosporidium*/Giardia combi, la cual es objeto de la presente investigación.

El RIDA® Quick *Cryptosporidium*/Giardia combi es una prueba de flujo lateral de un solo paso, en la cual los anticuerpos específicos dirigidos contra ambos parásitos están acoplados

a partículas rojas (específico para *Giardia*) y azules (específico para *Cryptosporidium*) de látex, que representan el reactivo de detección. Otros anticuerpos específicos contra ambos agentes patógenos están unidos a la membrana de nitrocelulosa. En primer lugar se suspende la muestra en un buffer de extracción y se deja sedimentar. Una parte alícuota del sobrenadante claro se deposita sobre la tira. Si el antígeno del parásito está presente en la muestra, se unirá al conjugado reactivo de detección - anticuerpo específico, correrá a través de la membrana de nitrocelulosa y se enlazará en la banda de captura, a un segundo anticuerpo específico. Según el antígeno presente en la muestra, se observará una línea azul y/o roja (28). (Ver anexo #3 y #4).

Al hacer uso de la prueba RIDA® Quick *Cryptosporidium*/*Giardia* combi, los resultados obtenidos siempre deberán interpretarse con el cuadro clínico. Un resultado positivo no descarta la presencia de otros agentes infecciosos, y un resultado negativo no excluye una posible infección por *Giardia intestinalis*. La excreción intermitente de quistes del parásito, una cantidad baja del antígeno en la muestra, o la conservación inadecuada de la misma, con la subsecuente degradación del antígeno, pueden dar lugar a un resultado falso negativo. De cualquier modo, si existe la sospecha clínica de la parasitosis se debe repetir el análisis en una segunda muestra del paciente. Estas se consideran limitaciones de la prueba (28). No se ha descrito reacción cruzada con otros parásitos intestinales (28).

Antecedentes

Costache y colaboradores compararon la prueba RIDA® Quick *Cryptosporidium*/*Giardia* combi frente a el análisis coprológico convencional (21), y encontraron un 100% de concordancia

en cuanto a sensibilidad y especificidad entre ambos métodos, solo cuando se analizaron tres y cuatro muestras de materia fecal por microscopía, y es conocida la dificultad que esto entraña, particularmente en el medio hospitalario. La casa fabricante del producto R-Biopharm, comparó la banda específica de Giardia de la prueba RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia con la microscopía, y reportaron una sensibilidad y especificidad de 100% y 95,2% respectivamente; el valor predictivo positivo fue 88,2%, y el valor predictivo negativo fue 100% (28); Weitzel y colaboradores, afirmaron que las técnicas de inmunodiagnóstico pueden ser utilizadas como complemento pero no como sustitutos de los métodos de microscopía en el diagnóstico de giardiosis (29).

Es importante destacar, que inicialmente se pretendía comparar el test RIDASCREEN® Giardia (31), un enzimoimmunoanálisis para la detección de *Giardia intestinalis* en materia fecal, con el coproanálisis directo, sin embargo ante la necesidad de microplacas de titulación y un espectrofotómetro para su lectura, equipos de los que no dispone el laboratorio central del Hospital de Niños “JM de los Ríos”, se decidió realizar la investigación con la prueba RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi, en vista de la menor complejidad para su ejecución.

Marco teórico

Biología del parásito

La especie *Giardia intestinalis* se encuentra clasificada dentro de la clase Zoomastigophorea. Pertenece al orden Diplomada, familia Hexamitidae, un rubro que incluye a los protozoarios que presentan flagelos, axostilo, dos núcleos y simetría bilateral (9). En la

naturaleza, *Giardia intestinalis* se presenta bajo dos formas: el trofozoíto o forma móvil, y el quiste o forma infectante. Es un parásito extracelular y anaerobio (8, 9,19, 20, 21).

El ciclo biológico se inicia con la ingestión de quistes del parásito, requiriéndose entre diez y cien para provocar infección. La exposición a materia fecal diseminada en el ambiente como consecuencia de la defecación al ras del suelo, representa un importante modo de transmisión, debido a que por lo común el número de quistes contenidos en una muestra de heces de un paciente con infección moderada es de aproximadamente 300 millones (9,12). El período de incubación es de 1 a 4 semanas (19).

Se ha comprobado que la leche materna, contiene glucoconjugados y anticuerpos de tipo IgA secretora que confieren protección a los lactantes frente a la infección por *Giardia intestinalis* (19,21).

Otro proceso implicado en la transmisión del parásito, es el consumo de alimentos mal lavados o que hayan sido regados con aguas servidas. También se han registrado brotes por transmisión hídrica. En relación con este mecanismo, cabe hacer la consideración de la gran resistencia que presentan los quistes en soluciones hipotónicas como el agua. Se ha visto que en agua a 21 grados centígrados los quistes pueden sobrevivir cerca de un mes y a 8 grados centígrados por más de dos meses; no obstante no resisten la desecación ni temperaturas mayores de 50 grados centígrados durante 15 minutos (8-9). Tienen gran resistencia a los desinfectantes clorados, lo cual adquiere especial importancia en lo referente al uso de piscinas, y su viabilidad

tampoco suele afectarse por el empleo de estas soluciones a las concentraciones que se utilizan para potabilizar el agua. Para que el agua sea apta para el consumo debe ser sedimentada, filtrada y hervida (6, 9, 19).

Los brotes a través del agua, fueron descritos por primera vez en Los Estados Unidos de Norteamérica en los años 60. El 64% de los brotes reportados por contaminación del agua a nivel mundial, se han originado por el paso de aguas negras hacia las tuberías de suministro de agua potable, lo cual ocurre debido a la producción de fisuras en tuberías viejas, o cruce de correcciones y reparaciones. Los brotes también pueden producirse por fallas en los sistemas de filtración (30). En un estudio realizado en el estado Zulia en el año 2009, sobre el papel del agua para consumo en la infección por *Giardia intestinalis*, Bracho y colaboradores encontraron que en todos los casos de diarrea donde se detectó este parásito como agente causal, se comprobó en un 100% la importancia del agua en su transmisión, debido a que este protozooario se identificó tanto en las heces como en el agua que estos consumían. (7).

Es importante destacar que la transmisión también puede ocurrir a través de fómites como pasamanos, billetes, monedas, muebles de baño, juguetes, y el contacto persona a persona, en particular en áreas con malas condiciones de higiene, y hacinamiento. La susceptibilidad individual, la falta de entrenamiento en el uso del baño, y la contaminación fecal del medio, predisponen a la transmisión de enteropatógenos incluida *Giardia intestinalis* en las guarderías. Estos centros desempeñan un papel importante en la transmisión del parásito en el medio urbano; las tasas de brotes familiares secundarios llegan a un 17-30%. Los niños de las guarderías pueden

excretar quistes durante meses y los residentes de instituciones para discapacitados mentales también presentan mayor riesgo para adquirir la infección (12,21). Los manipuladores de alimentos infectados, también juegan un rol importante en la transmisión de esta parasitosis (14).

Por otra parte, se ha señalado infección adquirida por contacto sexual, en particular en homosexuales que practican la felación y el sexo anal, lo que da lugar al Síndrome intestinal del homosexual (9,12).

Los artrópodos son importantes como vectores mecánicos en la cadena de transmisión. Está demostrado que los quistes de *Giardia intestinalis* pueden sobrevivir varios días en el intestino de la cucaracha y que son capaces de atravesar sin alteraciones el intestino de las moscas (9). El castor y el perro pueden actuar como reservorio del protozooario (8-9).

Las inmunodeficiencias humorales, como la inmunodeficiencia variable común, la agammaglobulinemia ligada al cromosoma X, y el déficit selectivo de inmunoglobulina A (IgA) predisponen a la infección crónica sintomática por *Giardia intestinalis* en humanos. Algunos informes sugieren que podrían producirse infecciones graves, a menudo refractarias al tratamiento, en individuos con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Los pacientes con fibrosis quística tienen una incidencia más alta de giardiosis, probablemente debido a la mayor cantidad de moco, que puede proteger al parásito de los factores del huésped en el duodeno (21).

Patogenia de la infección

La inmunología reveló los mecanismos a través de los cuales *Giardia intestinalis* produce daño tisular. Cuando el parásito logra traspasar el píloro conservando su vitalidad, se desencadenan una serie de mecanismos humorales para evitar la infección; se trata por una parte, de la producción de anticuerpos IgM e IgG en la mucosa duodenal, dirigidos contra los antígenos de superficie de los trofozoitos. De hecho se han demostrado anticuerpos IgG circulantes, que además de confirmar la teoría inmunogénica de la giardiosis, son de gran utilidad para el diagnóstico en la práctica (8). En relación con la IgA, la exploración ha sido más laboriosa. En Francia, Briaud y colaboradores a través de la técnica de inmunofluorescencia directa demostraron una brillante fluorescencia de trofozoitos de *Giardia*, específicamente en su membrana dorsal, pero solo de las cadenas ligeras y pesadas de la IgA, en pacientes humanos inmunocompetentes afectados de giardiosis, confirmada por biopsia yeyunal. Sin lugar a dudas esta reacción anti IgA encontrada en la superficie de la mucosa intestinal, representa una respuesta local de anticuerpos contra el parásito (8).

Además de estos mecanismos humorales, el organismo dispone de monocitos y macrófagos que son citotóxicos para *Giardia intestinalis*. Existe la hipótesis de que, al igual de lo que ocurre con el rechazo de aloinjertos, al estar presente el parásito, las células T reaccionarían vigorosamente frente a este, liberando linfoquinas que lesionarían los enterocitos (8). De modo que, en sentido metafórico, los enterocitos serían las víctimas de la batalla que se libra en el intestino entre los linfocitos T y el parásito.

Entre la cuarta a sexta semana de haberse iniciado la infección, los parásitos disminuyen, los linfocitos de la mucosa aumentan, y esta respuesta permite que se establezca memoria inmunológica. Esto explica porque la giardiosis sintomática es más frecuente en lactantes y preescolares que otros grupos etarios. Cuando la inmunidad del huésped está comprometida, bastan unas pocas formas parasitarias para provocar diarrea y lesiones del intestino. Esto contradice una antigua opinión según la cual se necesitaba una parasitosis masiva para explicar cuadros de diarrea rebelde o de dolor abdominal recurrente (8). También se ha reconocido la asociación de giardiosis sintomática y el sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado (8, 9,21).

Manifestaciones clínicas

La infección por *Giardia intestinalis* produce un amplio espectro de manifestaciones clínicas, lo cual depende de la interacción entre el parásito y el huésped (20) Una vez establecida la infección, el niño puede presentar excreción asintomática del parásito, diarrea aguda o crónica con o sin malaabsorción, e incluso retardo del crecimiento (21). Es importante destacar que gran parte de los casos de giardiosis cursan de manera asintomática (8, 9, 10, 11, 19, 20) En un estudio realizado por Giraldo y colaboradores, la prevalencia de *Giardia intestinalis* no presento asociación con diarrea ($p=0,35$) ni con dolor abdominal ($p=0,17$) (12).

La mayoría de los pacientes sintomáticos presenta un período limitado de diarrea aguda, náuseas y anorexia. Las heces son acuosas y profusas, y no contienen sangre, moco, o leucocitos. Desde el punto de vista fisiopatológico la diarrea es de tipo osmótico. El parásito por acción

directa o inmunogenica, ocasiona daño del borde en cepillo de los enterocitos, originando deficiencia de lactasa. La lactosa no desdoblada, atrae agua a la luz intestinal en tal cantidad que el colon es incapaz de reabsorberla, la flora bacteriana del colon fermenta este disacárido y genera ácido láctico que aumenta el peristaltismo y da a las heces un olor ácido que asociado al carácter acuoso, pH de 5,5 o inferior y la presencia de azúcares reductores, hacen sospechar de giardiosis en un análisis coprológico directo particularmente cuando se prolongan los síntomas (8,21).

Giardia intestinalis también ocasiona diarrea persistente y crónica (8). Las heces son grasosas, fétidas, y flotantes. Estas deposiciones anómalas pueden alternarse con períodos de estreñimiento y ritmo intestinal normal (8,21). Ante estos síntomas, si bien hay que pensar en causas como la enfermedad celíaca, fibrosis quística, abetalipoproteinemia, acrodermatitis enteropática, intolerancia o alergia a la proteína de la leche de vaca, entre otras, en países con alta prevalencia de giardiosis, esta parasitosis debe constituir un diagnóstico diferencial. Se ha visto que en áreas donde la enfermedad es endémica, infecciones repetidas pueden ocasionar una alteración del desarrollo neurológico del niño particularmente en los dos primeros años de vida, debido a que el parásito a nivel de la mucosa del intestino delgado, compromete la absorción de grasas y de micronutrientes como el zinc, esenciales para este proceso (11, 12,21, 32).

El dolor abdominal es de localización epigástrica o peri umbilical, por lo general de moderada a fuerte intensidad y relacionado con las comidas, similar al dolor de la enfermedad ulcero péptica y su origen es la lesión duodenal ocasionada por el parásito. En ocasiones los

trofozoitos pueden migrar a la bilis o a los conductos pancreáticos, pero esta situación es rara. Otras manifestaciones no gastrointestinales asociadas a la infección por *Giardia intestinalis*, son la urticaria recurrente y el angioedema (8, 11,21), y se han descrito artritis, retinitis e iridociclitis (11).

Diagnóstico

Realizar el diagnóstico de *Giardia intestinalis*, en la mayoría de los casos resulta complejo, no solo desde el punto de vista parasitológico como ya se ha mencionado, sino también desde el punto de vista clínico, debido a la gran proporción de pacientes con excreción asintomática de sus quistes. Esta situación no permite un adecuado registro estadístico de la ocurrencia de esta parasitosis (8, 10, 12). Se debe sospechar giardiosis en niños que acuden a guarderías, particularmente lactantes y preescolares, y toda persona en contacto con un caso conocido o con antecedentes de viaje reciente a un área endémica que presente síntomas sugestivos de esta parasitosis, que no puedan ser explicados por otras patologías no infecciosas (3, 21, 22), en especial si habita en zonas de pobreza extrema. Es importante destacar, que *Giardia intestinalis* no es invasiva y no produce eosinofilia (21)

Tratamiento

Para el tratamiento de esta parasitosis, las drogas de elección son el metronidazol, el tinidazol, la nitazoxanida y el secnidazol. Un curso de metronidazol de 5-7 días induce una tasa de curación de 80-95%; el tinidazol del 80-100%. Con respecto a la nitazoxanida, un curso de 3 días, es tan eficaz como el metronidazol y tiene la ventaja de tratar otros parásitos intestinales. El

secnidazol induce una tasa de curación de 97-100% (8,19). En relación con los portadores asintomáticos, actualmente la recomendación de la Organización Mundial de la Salud es tratarlos. (12). La justificación para ello, es la dificultad que existe para erradicar al parásito en vista de la gran proporción de pacientes infectados que no cursan con síntomas; además de que los quistes son viables hasta por dos meses fuera del huésped, todo lo cual contribuye a perpetuar el ciclo biológico de este protozooario en la naturaleza. (12,33).

Prevención

En las guarderías se debe hacer énfasis en mejorar las condiciones sanitarias y la higiene personal y de las manos de los empleados y los niños, en especial después de hacer uso del baño o de manipular pañales con excrementos. Cuando existe la sospecha de un brote, se deberá notificar al departamento de epidemiología correspondiente a la localidad, e iniciar una investigación para identificar y tratar a todos los niños, el personal de la guardería y los familiares infectados por el parásito, sintomáticos o no. Los niños que presenten diarrea, no deberán asistir a sus actividades escolares hasta que se encuentren asintomáticos. (19).

Hipótesis

Ante la complejidad para el diagnóstico parasitológico de *Giardia intestinalis*, surge la siguiente interrogante:

¿Cuál es la confiabilidad del RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi como prueba diagnóstica en la identificación de *Giardia intestinalis* en materia fecal en relación con el coproanálisis directo en la población que acude al servicio de Consulta Externa-Triaje del Hospital de Niños “JM de los Ríos”?

Objetivo general

Evaluar el test inmunocromatográfico rápido RIDA® Quick Cryptosporidium/ Giardia combi como prueba para la determinación de *Giardia intestinalis* en heces sobre la base de la comparación con el coproanálisis directo.

Objetivos específicos

1. Realizar el análisis coprológico directo y el test inmunocromatográfico RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi a muestras de materia fecal de niños con edades comprendidas entre 2 y 10 años de edad.
2. Calcular la sensibilidad y especificidad del test inmunocromatográfico RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi en la muestra objeto de estudio.

3. Establecer ventajas y desventajas del coproanálisis directo y el test inmunocromatográfico RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi como pruebas para el diagnóstico de giardiosis.

METODOS

Tipo de estudio

Se trata de un estudio prospectivo y analítico-correlacional, cuya muestra la constituyeron pacientes del servicio de Consulta Externa-Triaje del Hospital de Niños “JM de los Ríos”, ubicado en la ciudad de Caracas, urbanización San Bernardino, en el período comprendido entre los meses septiembre a noviembre de 2009.

Población y muestra

Para la recolección de la muestra se tomaron al azar, niños sin historia clínica conocida de giardiosis u otra patología, con edades comprendidas entre 2 y 10 años de edad, cuyos representantes consignaran en el laboratorio central del Hospital de niños “JM de los Rios” un espécimen de materia fecal para su estudio coprológico. Se realizó un muestreo intencional no probabilístico, y se recopiló un total de 65 pacientes, en vista de que solo se contó con ese número de tiras para la prueba RIDA, además de la dificultad que existió para captar a los pacientes.

Técnicas y procedimientos

Se realizó el análisis de cada una de estas muestras de materia fecal bajo visualización directa a través del microscopio óptico. Para ello, una porción de la misma se dispuso sobre una lámina portaobjetos, y se mezcló con una gota de solución salina al 0,9%; se cubrió y se observó al microscopio. Así mismo sobre otra lámina portaobjetos se dispuso otra porción de la muestra y

se mezcló con una gota de lugol; se cubrió y se observó al microscopio. Parásitos móviles y protozoarios se pueden apreciar con solución salina al 0,9%; huevos, quistes y larvas, se pueden apreciar con lugol (20). La visualización al microscopio óptico, se hizo con objetivos de inmersión de 10X hasta 40X cuando fue necesario, y estuvo a cargo de varios bioanalistas del laboratorio. Se estudió una sola muestra de materia fecal por paciente, en vista de la dificultad que representó realizar en el hospital sede de esta investigación, un análisis seriado de 3 o más muestras a intervalos de 2 o 3 días entre una y otra.

La porción restante de cada una de las muestras evaluadas por microscopía óptica bajo las técnicas ya descritas, fueron conservadas a temperatura de 2 grados centígrados con la finalidad de impedir la degradación de los antígenos de *Giardia intestinalis* que pudieran estar presentes en ellas. Posterior a 4 días de almacenamiento, las muestras fueron analizadas con la prueba rápida inmunocromatográfica cualitativa RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi. En este caso, también se evaluó un solo espécimen de materia fecal por paciente.

Se emplearon un total de 3 envases. Cada uno contenía 25 tiras de prueba o *strip*, 30 ml de ázida de sodio al 0,1%, (buffer de extracción), y 25 pipetas desechables, para un total de 75 elementos; no obstante 10 de estos se emplearon para la inducción del procedimiento. La realización de la prueba estuvo a cargo de 2 auxiliares de laboratorio con experiencia en el área. Si bien el objetivo del estudio no fue la investigación de *Cryptosporidium* sp, la razón de llevar a cabo la prueba para diagnóstico de ambos agentes patógenos, fue la no disponibilidad en Corpodiagnóstica C.A del kit para determinación exclusiva de *Giardia intestinalis*. Es importante

destacar, que no se ha descrito reacción cruzada entre los antígenos de estos parásitos, ni con los de otras formas parasitarias (28) y que solo se hizo la evaluación de la banda específica de Giardia.

Para la realización de esta prueba cada envase se conservó a temperatura de 2°C. Las muestras, el buffer de extracción y las tiras de prueba se ajustaron a temperatura ambiente antes de ser utilizadas. Durante el procedimiento se evitó la incidencia de luz solar. En un tubo de ensayo, se vertió 1 ml de buffer de extracción y se agregó una porción de la muestra. Acto seguido, se colocó en un agitador vórtex el tubo con la muestra para homogeneizarla, a una velocidad de 50 rpm por un lapso de 5 minutos. Una vez obtenida la mezcla, el sobrenadante de la misma se colocó en un nuevo tubo estéril, con la precaución de no pasar ninguna partícula sólida. La tira de prueba se sumergió la distancia indicada por la casa fabricante para permitir que el líquido fluyera sin impedimento. Después de transcurridos 5 minutos se leyó el resultado.

La interpretación de la reacción se realizó de la siguiente manera (28)

Desde el punto de aplicación de la muestra:

Banda azul, banda roja y banda verde (de control) visibles: Cryptosporidium y Giardia positivos

Banda roja y banda verde visibles: Giardia positivo

Banda azul y banda verde visibles; Cryptosporidium positivo

Solo banda verde visible: negativo

No banda visible u otra coloración: invalido (Ver anexos # 3 y # 4).

Posterior al procedimiento, las muestras y los materiales empleados fueron descartados. Las tiras de prueba restantes se almacenaron nuevamente en el envase de forma hermética, y se conservaron a temperatura de 2°C, hasta completar 65 pruebas.

Métodos estadísticos

Para las variables coproanálisis directo y prueba RIDA, se calcularon frecuencias y porcentajes. Así mismo, se calcularon la sensibilidad, especificidad, y los valores predictivos positivo y negativo de ambas pruebas.

La relación entre las variables coproanálisis directo y prueba RIDA, se analizó con la prueba exacta de Fisher, y se utilizó un valor significativo de contraste menor al 5%.

Para la edad y el sexo, también se calcularon sus respectivas frecuencias y porcentajes. La relación entre estas y la variable diagnóstico parasitológico se analizó con la prueba de Chi cuadrado.

Los cálculos estadísticos se hicieron con la aplicación EPIDAT 5.1

RESULTADOS

Se considero para este estudio una muestra al azar, constituida por 65 pacientes en quienes se realizo el análisis coprológico directo con solución salina y lugol, y la prueba RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi en una única muestra de heces.

Solo se evidencio en una de las tiras de prueba una banda azul correspondiente a positividad para Cryptosporidium. (Ver anexo # 4). Ninguna de las reacciones se considero inválida.

Tabla 1

Relación del resultado de la prueba RIDA y el coproanálisis directo

RIDA	Coproanálisis directo		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	12	6	18
Negativo	0	47	47
Total	12	53	65

p exacta de Fisher = 0,031

La tabla 1 expresa la relación entre las variables coproanálisis directo y prueba RIDA. Se registraron un total de 18 casos positivos. De estos, solo 12 fueron diagnosticados a través del coproanálisis directo. La prueba inmunocromatográfica RIDA permitió detectar el parásito en todos los casos. Con respecto a los casos negativos, se registro un total de 53 con el coproanálisis directo y 47 con la prueba RIDA.

Tabla 2

Valores diagnósticos de la prueba RIDA para la detección de *Giardia intestinalis* en materia fecal

Parámetros	Valor	IC - 95%
Sensibilidad	100,0	95,8 - 100,0
Especificidad	88,7	79,2 - 98,2
VPP	66,7	42,1 - 91,2
VPN	100,0	98,9 - 100,0

La Tabla 2 muestra los valores diagnósticos de la prueba RIDA. Se obtuvo un valor de sensibilidad de 100,0% (IC-95%: 95,8 – 100,0); mientras que la especificidad fue de 88,7% (IC-95%: 79,2 – 98,2) Los valores relacionados a la probabilidad post-prueba, indicaron un valor predictivo positivo (VPP) de 66,7% (IC-95%: 42,1 – 91,2); mientras que el valor predictivo negativo (VPN) fue de 100,0% (IC-95%: 98,9 – 100,0).

Tabla 3

Distribución de la muestra según diagnóstico parasitológico y sexo

	Quistes de <i>Giardia intestinalis</i>			
	Si		No	
Sexo	n	%	n	%
Masculino	5	41,7	29	54,7
Femenino	7	58,3	24	45,3
Total	12	100,0	53	100,0

$\chi^2 = 0,668$ (p = 0,414)

La tabla numero 3, representa la relación entre las variables sexo y diagnóstico parasitológico. Del total de pacientes masculinos, 5 fueron positivos para Giardia y 29 fueron negativos. Con respecto al sexo femenino, 7 fueron positivos y 24 fueron negativos.

Tabla 4

Distribución de la muestra según diagnóstico parasitológico y edad.

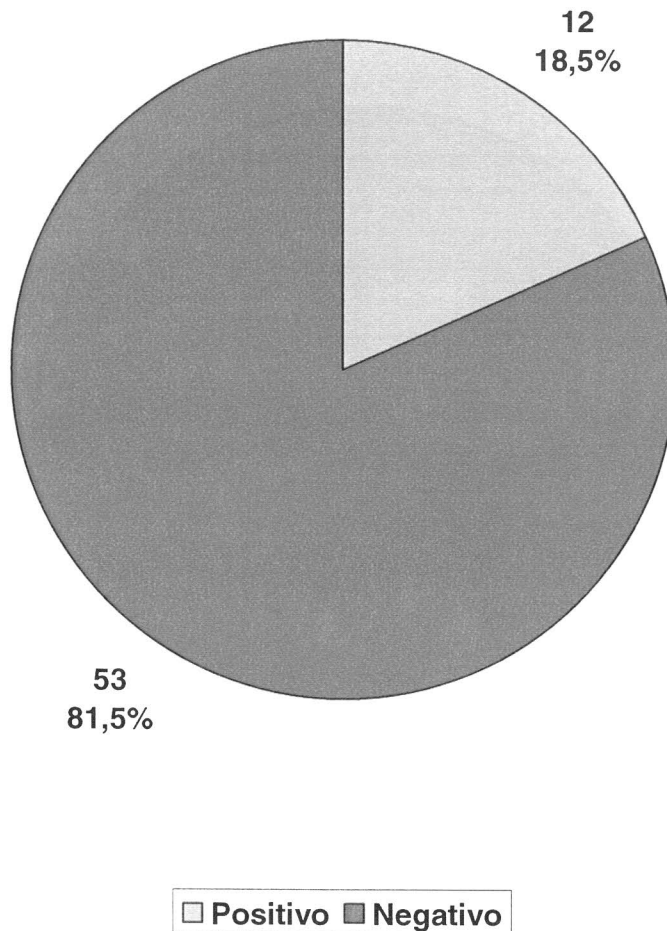
Edades	Quiistes de <i>Giardia intestinalis</i>			
	Si		No	
	n	%	n	%
2 - 4	10	83,3	25	47,2
5 - 7	0	0,0	19	35,8
8 - 10	2	16,7	9	17,0
Total	12	100,0	53	100,0

$\chi^2 = 6,679$ (p = 0,035)

La tabla 4 representa la relación entre la variable edad y diagnóstico parasitológico. En el grupo de 2-4 años se encontraron 10 casos positivos y en el grupo de 8-10 años, 2 casos positivos. En el grupo de 5-7 años no se detectó el parásito por análisis coprológico simple. En lo referente a los casos negativos, en el grupo de 2-4 años se registraron 25 casos; en el grupo de 5-7 años 19 casos; y en el grupo de 8-10 años 9 casos.

Gráfico 1

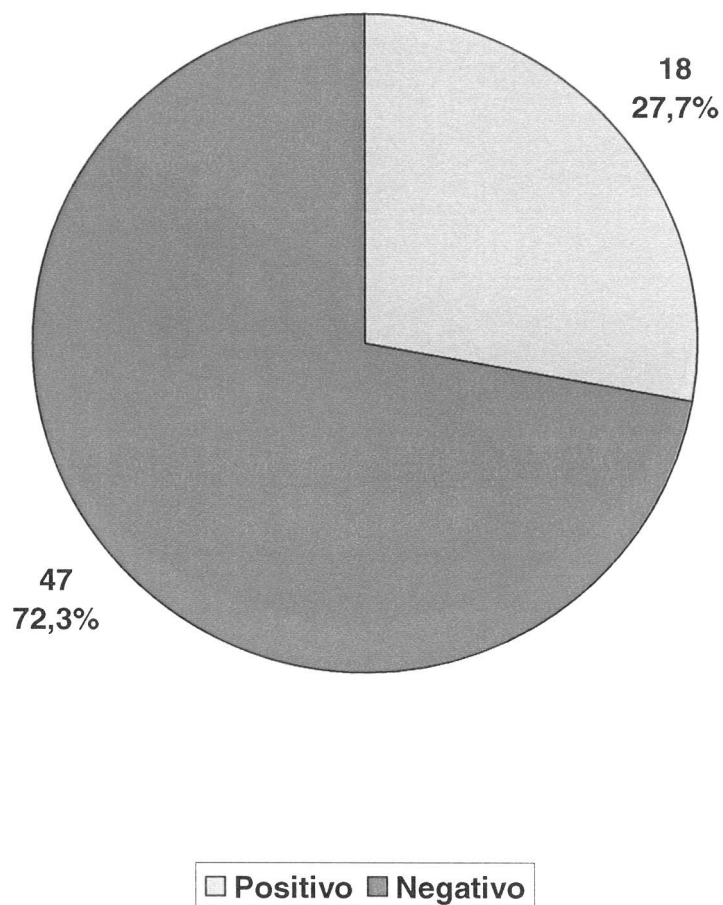
Distribución de la muestra según resultado del coproanálisis directo



En este gráfico se expresan las frecuencias y porcentajes de la variable coproanálisis directo. Se registraron 12 casos positivos y 53 casos negativos con esta técnica.

Gráfico 2

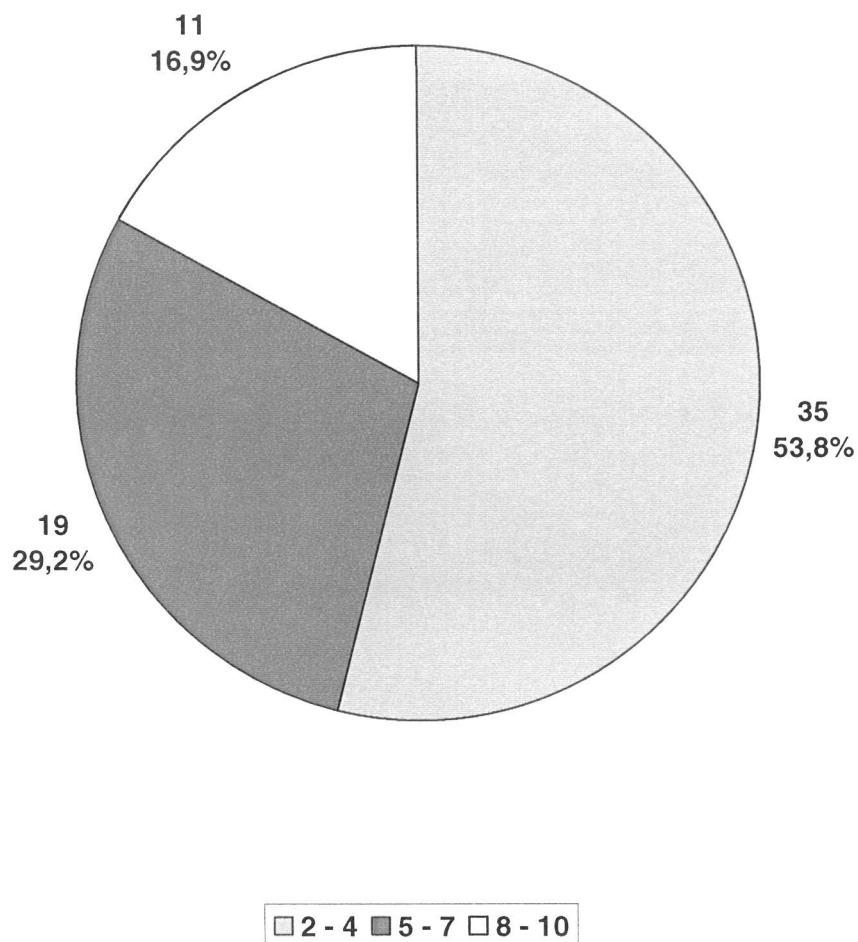
Distribución de la muestra según resultado de la prueba RIDA



El gráfico numero 2 representa la distribución por frecuencia y porcentaje de la variable Prueba RIDA. Se registro un total de 18 pacientes positivos y 47 pacientes negativos con este método.

Gráfico 3

Distribución de la muestra según grupos de edad (años)

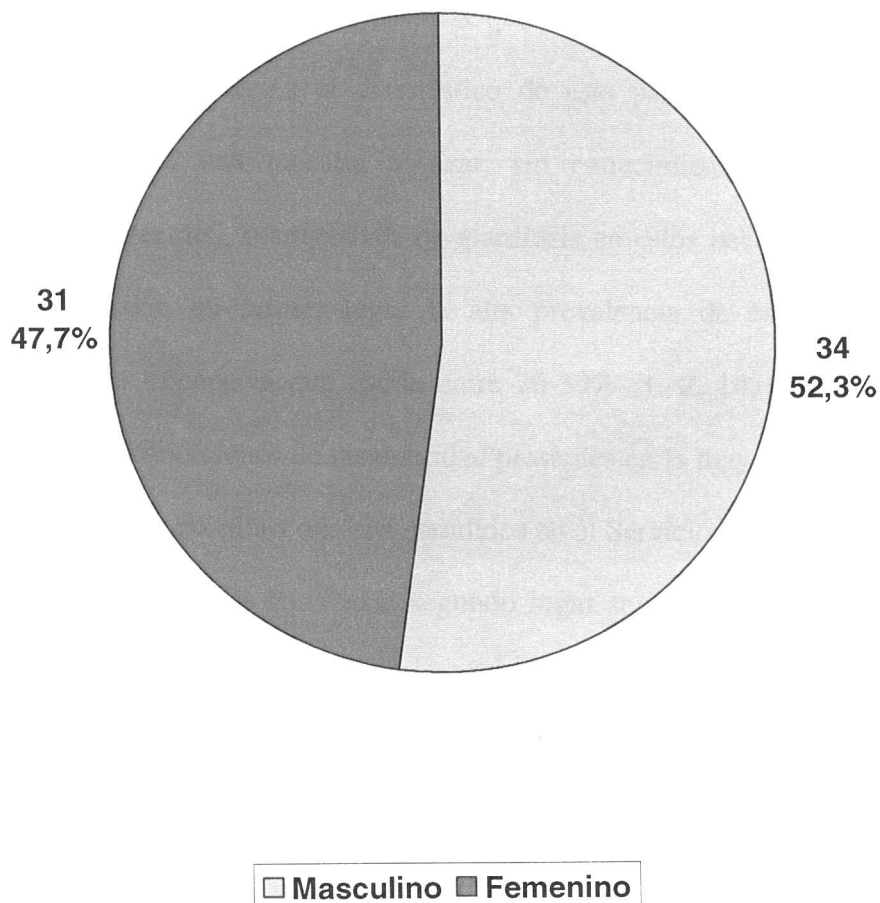


En este gráfico se representa la distribución de la variable edad por frecuencia y porcentaje. 35 pacientes estuvieron en el grupo de 2-4 años de edad, 19 pacientes en el grupo de

5-7 años, y en el grupo de 8-10 años un total de 11 pacientes. La edad media calculada para la muestra fue de $4,8 \pm 2,3$ años.

Gráfico 4

Distribución de la muestra según sexo.



En el gráfico número 4 se representa la distribución por frecuencia y porcentaje de la variable sexo. En este estudio, 34 pacientes fueron del sexo masculino y 31 pacientes fueron del sexo femenino.

DISCUSIÓN

El diagnóstico parasitológico de la giardiosis, siempre ha constituido un desafío para el pediatra y el especialista en gastroenterología, aun después de obtener por medio de la historia clínico-epidemiológica datos manifiestos de esta patología.

A este respecto, es importante destacar que si bien no cabe duda del papel fundamental que tiene la historia médica en el diagnóstico de esta parasitosis, para los efectos de esta investigación, se tomo una muestra al azar, sin conocimiento de síntomas y signos de enfermedad gastrointestinal, o sugestivos de giardiosis en estos pacientes. Se considero para la toma de esta decisión en primer lugar la alta prevalencia de esta entidad nosológica en Venezuela, con una frecuencia que oscila entre 20-30% (1, 2, 14, 15, 16, 17,18), lo cual se corresponde con las condiciones de insalubridad presentes en la mayoría de los hogares, realidad de la que no se escapan los niños que son atendidos en el Servicio de Consulta Externa-Triaje del Hospital de niños "JM de los Ríos". En segundo lugar se tomo en cuenta la dificultad de los autores para acudir al mencionado servicio, y aplicar un instrumento de recolección de datos.

La prueba *gold standard* en este estudio fue el coproanálisis directo. De acuerdo con lo descrito en la literatura (8, 9, 21), y a lo informado por Costache y colaboradores, Weitzel y colaboradores, y García y colaboradores entre otros (22, 29, 34), en estudios clínicos donde el objetivo ha sido evaluar pruebas diagnósticas para la detección de *Giardia intestinalis* en heces, el análisis coproparasitológico directo por microscopía constituye en la mayoría de los casos, la

prueba de referencia frente a la cual se comparan otras técnicas, debido a su fácil acceso e inocuidad para el paciente.

De los 65 niños que conformaron la muestra objeto de este estudio, 12 tuvieron quistes de *Giardia* en sus heces, lo que corresponde con un 18,5%; y en los 53 restantes que representan el 81,5% de la muestra no se observaron parásitos cuando se realizó el análisis coproparasitológico directo.

Con respecto a la prueba RIDA, de 65 pacientes, 18 fueron diagnosticados como positivos para *Giardia intestinalis*, lo que representa el 27,7% de la muestra total, y en 47 pacientes no hubo positividad para el parásito (72,3%). La diferencia evidente observada entre ambas pruebas diagnósticas permite realizar la siguiente discusión:

Al compararse la prueba RIDA con el coproanálisis directo como método diagnóstico para la detección de antígenos de *Giardia intestinalis* en materia fecal, se observó un cambio en la respuesta de la prueba inmunocromatográfica con respecto al análisis coprológico directo por microscopía. En 6 de los 18 pacientes con diagnóstico de giardiosis, el análisis directo de materia fecal no reportó la presencia del parásito y posteriormente al realizar la prueba RIDA resultaron positivos. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p=0,031$) (Ver Tabla 1).

Ahora, si bien es cierto que con todo lo anteriormente planteado pudiéramos inferir que la prueba RIDA resultaría preferible al coproanálisis directo para el diagnóstico parasitológico de *Giardia intestinalis*, se debe destacar que se realizó el análisis coprológico de una sola muestra heces, y no la evaluación de 3 muestras a intervalo de 2 a 3 días entre una y otra, que sería lo ideal ante la sospecha clínica de infección por *Giardia intestinalis*, con la finalidad de aumentar la sensibilidad del coproanálisis directo, y por ende la posibilidad de detectar el parásito. Costache y colaboradores, en Rumania, compararon la prueba inmunocromatográfica RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi con el coproanálisis directo (22) y se observó un 100% de concordancia tanto en sensibilidad como en especificidad entre ambas pruebas, solo cuando fueron analizadas 3 y 4 muestras de materia fecal por microscopía, incluso cuando se analizaron 4 especímenes con intervalo de 3 días entre uno y otro, la sensibilidad del examen coprológico directo fue de 100%.

La sensibilidad de la prueba RIDA en este estudio fue de 100%; lo cual implica que la totalidad de los niños con diagnóstico de giardiosis por coproanálisis directo, fueron también positivos cuando se realizó la prueba inmunocromatográfica en sus heces (Ver Tabla 2).

En un estudio clínico realizado por R-Biopharm, la casa fabricante del producto, la sensibilidad de la prueba, evaluando únicamente la banda específica de *Giardia*, con respecto a la microscopía fue de igual modo 100% (28); García y García (34), compararon una prueba de inmunocromatografía de otra casa fabricante (Medical Chemical Corporation), con igual fundamento a la prueba RIDA, con el análisis coprológico directo por método de concentración,

y la sensibilidad calculada fue de 97,2%; por su parte Weitzel y colaboradores en Berlín, Alemania (29), evaluaron siete pruebas de inmunoensayo con respecto al análisis por microscopía más inmunofluorescencia directa de muestras de materia fecal, y la sensibilidad reportada para la prueba RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi fue de 80%. Es importante destacar que en todos estos estudios, se evaluó una sola muestra de heces.

De acuerdo con los resultados obtenidos y con lo reportado en estudios previos, se puede afirmar que la prueba inmunocromatográfica RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi tiene una alta sensibilidad y por tanto, puede constituir un método complementario, en aquellos casos en los que solo es posible analizar una sola muestra de heces. Esto permitiría realizar con mayor precisión el diagnóstico parasitológico. Esta deducción reviste especial importancia para la población que es atendida en el Servicio de Consulta Externa-Triaje del Hospital de Niños “JM de los Ríos”, dada la dificultad que existe para realizar análisis seriados de materia fecal ante la sospecha clínica de giardiosis.

Con respecto a la especificidad, en esta investigación la prueba RIDA tuvo un valor de 88,7%, de manera que esta prueba confirmó la ausencia de enfermedad en este grupo de pacientes. En el estudio de Weitzel y colaboradores la especificidad de la prueba RIDA fue de 98%; R-Biopharm obtuvo una especificidad de 95,2%; y en el estudio de García y García, la especificidad calculada fue de 100% (28, 29,34) (Ver Tabla 2).

Ante el resultado de especificidad calculado para la prueba RIDA en este estudio, se podría pensar que un 11,3% de los pacientes sin evidencia de quistes de *Giardia* en el análisis coprológico convencional, fueron falsos positivos al realizar la prueba RIDA. Sin embargo, este porcentaje representa los 6 pacientes que no fueron diagnosticados en un inicio a través del coproanálisis directo, y que finalmente resultaron positivos con la prueba RIDA. Esta situación es la expresión concreta de que el análisis microscópico de una sola muestra de heces no es un método lo suficientemente sensible y específico para el diagnóstico parasitológico de giardiosis, aun cuando no se descarta su importancia en el protocolo para detección de *Giardia intestinalis*.

El valor predictivo positivo de la prueba RIDA en esta investigación fue de 66,7%. Se pudiera inferir que un 33,3% de los niños con prueba RIDA positiva para *Giardia intestinalis*, no tenían quistes del parásito en sus heces. Nuevamente, este 33,3% corresponde a los 6 pacientes en los que no se evidenciaron quistes del parásito a través del análisis coprológico directo de una sola muestra de heces, pero que si fueron diagnosticados con la prueba inmunocromatográfica RIDA (Ver Tabla 2).

Resultados diferentes observamos en los estudios de Weitzel y colaboradores (valor predictivo positivo 100%), R-Biopharm (valor predictivo positivo 88,2%), y García y García (valor predictivo positivo 100%). En estos estudios también se analizó una sola muestra de heces. La inmunofluorescencia directa, el análisis microscópico convencional y por método de concentración respectivamente, constituyeron las pruebas de referencia.

Otra de las causas que pueden condicionar un bajo valor predictivo positivo para determinada prueba diagnóstica, es que exista una baja proporción de casos positivos en la muestra objeto de estudio, o una baja prevalencia de la patología en la población (41). Sin embargo no se considero que ninguna de estas haya influido el valor predictivo positivo obtenido, tomando en cuenta que de la muestra estudiada un 27,7% de los niños tuvo diagnóstico de giardiosis y además es ya conocida la alta prevalencia de esta parasitosis en Venezuela (1, 2, 14, 15, 16, 17,18).

La prueba RIDA en esta investigación tuvo un valor predictivo negativo de de 100%. De manera que en el total de niños sin evidencia de quistes de *Giardia intestinalis* en el análisis microscópico convencional, la prueba inmunocromatográfica fue negativa. A partir de este hecho, se puede afirmar que el RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi, constituye un adecuado método para confirmar la ausencia del parásito. Resultados similares obtuvieron Weitzel y colaboradores con un 95%; R-Biopharm con un 100%; y García y García obtuvieron un 97,2% (28, 29,34) (Ver Tabla 2).

La relación entre el diagnóstico parasitológico con el sexo y la edad, y la determinación de sus respectivas frecuencias se realizo a partir de los resultados obtenidos a través del coproanálisis directo, en virtud de que esta prueba fue la que se considero como patrón de referencia o *gold standard*.

Al relacionar el sexo con la variable diagnóstico parasitológico se observó que del total de pacientes masculinos, 5 fueron positivos para Giardia y 29 fueron negativos. Con respecto al sexo femenino, 7 fueron positivos y 24 fueron negativos. De acuerdo con lo descrito en la literatura (1,10), la incidencia de esta parasitosis es ligeramente mayor en el sexo masculino con respecto al femenino. Datos opuestos se observaron en esta investigación, sin embargo, la relación entre ambas variables no fue estadísticamente significativa ($p=0,414$) (Ver Tabla 3).

En lo referente a la edad, en el grupo de 2-4 años se registraron 10 casos positivos y en el grupo de 8-10 años solo 2 casos positivos. En el grupo de 5-7 años no se detectó el parásito por análisis coprológico directo. Tal y como ha sido referido en la literatura (8, 9, 12, 21) y por Rivero y colaboradores (16), en este estudio se observó que el mayor número de casos de giardiasis estuvo en el grupo de 2-4 años, lo cual pudiera esperarse tomando en cuenta los hábitos propios de estas edades y la asistencia a guarderías, que los hacen más vulnerables a la infección por este protozooario (21). La asociación entre las variables edad y diagnóstico parasitológico, aun cuando se realizó sobre la base de los resultados obtenidos a través del coproanálisis directo, fue estadísticamente significativa ($p=0,035$) (Ver Tabla 4).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Realizar el diagnóstico parasitológico una vez que se tiene la sospecha clínica, resulta laborioso debido a que la excreción de quistes del parásito por lo general es intermitente, incluso en infecciones leves llega a ser muy baja, y a el hecho de que no existe una prueba diagnóstica que pueda considerarse idónea en términos de sensibilidad, especificidad, inocuidad, costos y comodidad para ser aplicada.

A partir de esto se concluye lo siguiente:

- La historia clínico-epidemiológica tiene un papel fundamental en el diagnóstico de esta parasitosis, en virtud de que permite al pediatra una adecuada orientación de la patología, y por consiguiente le da la posibilidad de indicar con adecuado criterio las pruebas diagnósticas que conduzcan a un diagnóstico preciso y definitivo.
- La prueba inmunocromatográfica RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi tiene una alta sensibilidad (100%) por lo que constituye un método confiable para el diagnóstico parasitológico de la infección por *Giardia intestinalis*, y resulta idónea como complemento del coproanálisis directo cuando solo es posible analizar una sola muestra de heces. No obstante, no se considera que deba sustituirlo en virtud de que la evaluación microscópica de las heces permite identificar otras especies parasitarias, y sin duda el recurso humano, en este caso la labor del bioanalista es de incalculable valor.

- La prueba RIDA al tener un alto valor predictivo negativo (100%) constituye un método útil para confirmar la ausencia del parásito en heces, cuando no se identifica su morfología en el análisis coprológico por microscopía.
- El análisis microscópico de una sola muestra de heces, carece de la sensibilidad y especificidad que se requiere para el diagnóstico parasitológico de giardiosis. El coproanálisis directo, preferiblemente de 3 muestras evaluadas a intervalos de 2 a 3 días entre una y otra, continúa siendo el método para diagnóstico parasitológico de *Giardia intestinalis* y otros parásitos, de elección por su accesibilidad y bajo costo.

Como recomendaciones, se afirma que sin duda la prevención juega un rol primordial en el control de esta parasitosis. Promover hábitos como el adecuado lavado de las manos, antes y después de ir al baño, de manipular los alimentos, particularmente en las personas que se desempeñan como cuidadores y docentes en guarderías y preescolares, y fomentar el consumo de agua potable, la cual debe ser filtrada y hervida para ser apta para el consumo, son medidas que contribuirían a impedir la continuidad del ciclo biológico del parásito en el medio. Sin embargo, si bien el factor educación es de vital importancia, las políticas sanitarias y de vivienda de las naciones, también deben estar orientadas a mejorar las condiciones de habitabilidad, dotación de servicios públicos, y disposición de excretas de las comunidades.

En lo referente a la prueba RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi, aún cuando es un test con alta sensibilidad, implementar su uso de rutina como parte de los métodos para

diagnostico parasitológico, generaría un incremento del presupuesto destinado al sector salud del país; no obstante, esto pudiera considerarse relativo si se toma en cuenta el nivel de especialización y la minuciosa labor que son requeridos para la realización de el análisis coprológico directo y seriado de excelente calidad.

Las altas tasas de infección por *Giardia intestinalis* y sus consecuencias, especialmente durante la infancia, exigen la implementación de programas de control de enteroparasitosis a corto y a largo plazo, además de realizar un diagnóstico eficaz, rápido y sensible (11).

REFERENCIAS

1. Rodríguez E, Sifontes S, Luna H, Gaití J, Arias A. Segundo Consenso Sobre Enfermedad Diarreica en Pediatría: Epidemiología. Arch Venez Puer Ped 2009; 72 supl 4: 9-15.
2. Guía Práctica de La Organización Mundial de Gastroenterología: Diarrea Aguda. Marzo 2008.
3. Mortality Database (consultado el 27 de marzo de 2010); (5 páginas en pantalla). Disponible en: <http://www.who.int/healthinfo/morttables/en/index.html>.
4. Diarrhoea: Why children are still dying and what can be done? (consultado el 27 de marzo de 2010); (65 páginas en pantalla). Disponible en: http://www.who.int/child_adolescent_health/documents/9789241598415/en/index.html.
5. Enfermedades vinculadas al agua (consultado el 27 de marzo de 2010); (4 páginas en pantalla). Disponible en: <http://www.who.int/topics/diarrhoea/en/>.
6. The World Health Report 2004 (consultado el 27 de marzo de 2010); (100 páginas en pantalla). Disponible en: <http://www.who.int>.
7. Bracho M, Chirinos M, Luna M, Cheng-Ng R, Días O et al. Frecuencia de Giardia en pacientes con diarrea y el papel del agua para consumo humano en su transmisión. Ciencia 2009; 17 (1): 5-13 (consultado el 31 de marzo de 2010) (9 páginas en pantalla). Disponible en: <http://revistas.luz.edu.ve/index.php/cien/article/viewFile/1282/1249>.
8. Plata E, Leal F. Las Parasitosis Intestinales. En: Plata E, Leal F, editores. El Pediatra Eficiente. Sexta Edición. Editorial Médica Panamericana. Colombia 2006. pp. 246-261.

9. Vázquez O, Martínez I, Campos T, Mora M, Álvarez R, Lemus H, et al. Parasitosis Intestinales. En: González N, Torales A, Gómez D, editores. Infectología clínica pediátrica. Séptima Edición. Mc Graw Hill. México 2004. pp. 873-913.
10. Rosales D, Arévalo M, Ortiz L. Respuesta inmune a algunos parásitos extracelulares. Revista Médica de la Extensión Portuguesa-ULA 2009; 4 (1): 16-26.
11. Alparo I. Giardiasis y Desnutrición. Rev Soc Bol Ped 2005; 44 (3): 166-173.
12. Giraldo J, Lora F, Henao L, Mejía S, Gómez J. Prevalencia de Giardiasis y Parasitos Intestinales en Preescolares de Hogares atendidos en un programa estatal de Armenia, Colombia. Rev. salud pública 2005; 7 (3): 327.338.
13. Joder J, Beach M. Giardiasis Surveillance – United States, 2003-2005. MMWR Surveillance Summaries 2007; 56 (7): 11-18 (consultado el 31 de marzo de 2010) (10 páginas en pantalla). Disponible en: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss5607a2.htm>.
14. Leal J, Ortega P, Romero T. Citocinas Séricas en Niños Infectados con Giardia lamblia. Arch Venez Puer Ped 2008; 71 (1): 13-16.
15. Freitas A, Colmenares D, Pérez M, García M, Díaz O. Infección por Cryptosporidium sp y otros parásitos intestinales en manipuladores de alimentos del estado Zulia, Venezuela. Invest Clin 2009; 50 (1): 13-21.
16. Rivero Z, Díaz I, Acurero E, Camacho M, Medina M, Ríos L. Prevalencia de Parásitos Intestinales en Preescolares de 5-10 años de un Instituto del Municipio Maracaibo, Estado

Zulia, Venezuela (consultado el 01 de marzo de 2010); (20 páginas en pantalla).
Disponible en: <http://revistas.luz.edu.ve/index.php/km/article/view/358/340>.

17. Davila E, Olivo C, Mendez M. Niños con Amibiasis Giardiasis y Blastocistosis. Respuesta clínica ante tres medicamentos. MedULA Revista de la Facultad de Medicina Universidad de los Andes 2006; 15 (2): 65-76.
18. Cortez R, Freitas M. Agentes etiológicos de la parasitosis intestinal en usuarios que acudieron a la consulta de atención integral del ambulatorio rural tipo I, El Milagro. XII (resumen). Congreso de la Asociación Panamericana de Infectología. VI Congreso Venezolano de Infectología. II Congreso Latinoamericano y del Caribe de Infecciones de Transmisión Sexual; 2005 mayo 15-18; Caracas, Venezuela (consultado el 01 de marzo de 2010). Disponible en: <http://caibco.ucv.ve>.
19. American Academy of Pediatrics. Giardia intestinalis. En: Pickering L, Baker C, Long S, McMillan J, editores. Red Book: Enfermedades Infecciosas en Pediatría. Vigésimo Séptima Edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid 2007. pp. 394-397.
20. Noemí I, Atías A. Enteroparasitosis: Giardiasis. En: Atías A, editor. Parasitología Médica. Primera Edición. Editorial Mediterráneo. Santiago de Chile 1999. pp. 134-141.
21. Chandy J. Giardiasis y Balantidiasis. En: Kliegman R, Jenson H, Behrman R, Stanton B, editores. Nelson Tratado de Pediatría. Décimo Octava Edición. Editorial Elsevier. Barcelona, España 2009. pp. 1462-1464.

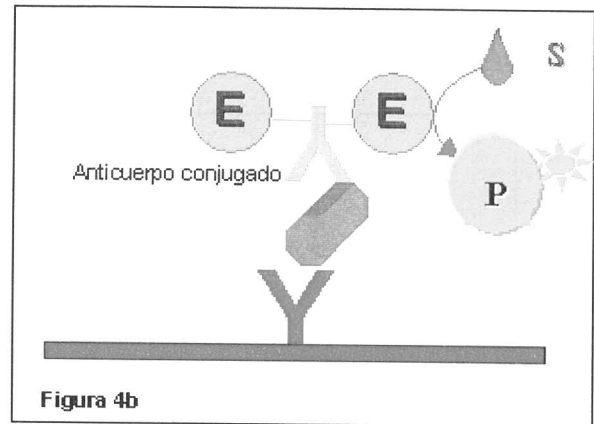
22. Costache C, Colosi I, Colosi H. Immunochromatography versus microscopy for the identification of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human faces. *Sc Parasit* 2009; 1 (2): 26-31.
23. Alonso C, Bartolomé R, Domínguez J, Matas L, Rabella N. Técnicas rápidas de detección de antígenos. *Procedimientos en Microbiología Clínica* 2005 (consultado el 31 de marzo de 2010) (10 páginas en pantalla). Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap19.asp>.
24. Montaña R, Romano E. Anticuerpos monoclonales y su aplicación en Hematología. *Interciencia. Revista de Ciencia y Tecnología* 1995; 20 (4): 194-203 (consultado el 31 de marzo de 2010) (10 páginas en pantalla). Disponible en: http://www.cdc.fonacit.gov.ve/cgi-win/be_alex.exe?Palabra=HEMATOLOG%CDA&Nombrebd=fonacit&CorreoE=.
25. Alonso L, Domínguez G. Pruebas para la detección rápida del rotavirus 2007 (consultado el 30 de marzo de 2010) (04 páginas en línea). Disponible en: www.infodoctor.org/gipi/.
26. Papini R, Cardini G. Evaluation of a rapid *Cryptosporidium*/*Giardia* Immunochromatographic test for diagnosis of giardiasis in dogs. *Revue Méd Vét* 2006; 157 (10): 490-493.
27. Marín M. Prácticas de Tecnología y Caracterización de Productos Lácteos. Práctica 8: Inmuncromatografía (consultado el 01 de febrero de 2010); (01 página en pantalla). Disponible en: http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/mariamc/lacteos/practica8.htm.

28. RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi. Art. N° N 1123. R Biopharm AG. Landwehrstr, Alemania (consultado el 01 de febrero de 2010); (9 páginas en pantalla). Disponible en: http://www.corpodiagnostica.com/user/N1123_RidaQuick%20Cryptosporidium-Giardia%20Combi_ES_04_11_18_à.pdf.
29. Weitzel T, Dittrich S, Möhl E, Jelinek A, Jelinek T. Evaluation of seven comercial antigen detection test for Giardia and Cryptosporidium in stool samples. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 656.659.
30. Vásquez O, Campos T. Giardiasis. La parasitosis más frecuente a nivel mundial. Revista del Centro De Investigación. Universidad La Salle México 2009; 8 (31): 75-90 (consultado el 31 de marzo de 2010) (17 páginas en pantalla). Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=34211305006>.
31. RIDASCREEN® Giardia. Art N° C 1101.R Biopharm AG. Landwehrstr, Alemania (consultado el 01 de febrero de 2010); (14 páginas en pantalla). Disponible en: http://www.corpodiagnostica.com/user/C1101%20Giardia%2004-11-26_ES_final.pdf.
32. Berkman D, Lescano A, Gilman R, López S, Black M. Effects of stunting, diarrhoeal disease, and parasitic infection during infancy on cognition in late childhood: a follow-up study. Lancet 2002; 359 (9306): 564-571 (consultado el 20 de marzo de 2010) (8 páginas en pantalla). Disponible en: [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(02\)07744-9/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(02)07744-9/fulltext).

33. Modelo OMS de información sobre prescripción de medicamentos: Medicamentos utilizados en las enfermedades parasitarias-Segunda edición. Ginebra 1996 (consultado el 28 de marzo de 2010); (160 páginas en pantalla). Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Jh2924s/2.html>.
34. García L, García J. Detection of Giardia lamblia Antigens in Human Fecal Specimens by a Solid-Phase Qualitative Immunochromatographic Assay. J. Clin. Microbiol 2006; 44 (12): 4587-4588.
35. Cordero M, Martínez A. Problemas de nomenclatura en parasitología. Panace@ 2001; 2 (6): 94-97.
36. Gerardo M, Elizalde E, Álvaro N, Gerardo B. Enfermedad diarreica aguda por Giardia lamblia. Anales de la Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú 2002; 63 (1): 25-31.
37. Núñez F, López J, De la Cruz A, Finlay C. Factores de riesgo de la infección por Giardia lamblia en niños de guarderías infantiles de la Ciudad de La Habana, Cuba. Cad. Saúde. Pública 2003; 19 (2): 677-682.
38. Medina Z, Romero L, Botero L. Viabilidad de quistes de Giardia sp. en cuatro playas del Lago de Maracaibo. Ciencia 2007; 15 (1): 7-12.
39. Balcells A. Examen de heces (coprología). En: Balcells A, editor. La Clínica y el Laboratorio. Décimo Octava Edición. Editorial Masson. Barcelona, España 2001. pp. 253-266.

40. Ángel G, Ángel M. Examen Coproscópico. En: Ángel G, Ángel M, editores. Interpretación clínica del Laboratorio. Séptima Edición. Editorial Médica Panamericana. Colombia 2006. pp. 266-267.
41. Fernández S, Pértegas S. Pruebas Diagnósticas. Cad Aten Primaria 2003; 10: 120-124 (consultado el 01 de marzo de 2010) (4 páginas en pantalla). Disponible en: <http://www.fisterra.com>.

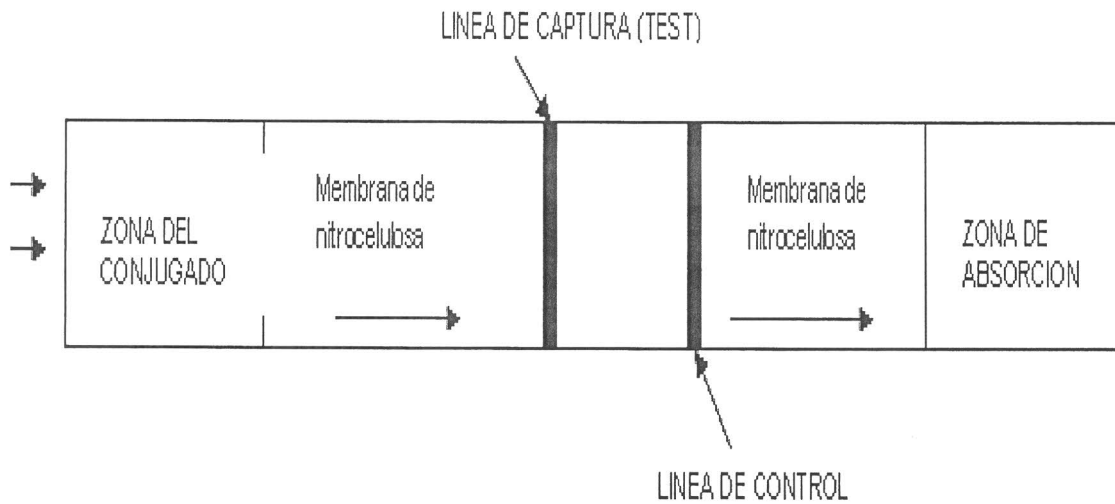
ANEXO # 1



Esquema de la técnica del enzoinmunoanálisis

Fuente: Alonso C, Bartolomé R, Domínguez J, Matas L, Rabella N. Técnicas rápidas de detección de antígenos. Procedimientos en Microbiología Clínica 2005 (consultado el 31 de marzo de 2010) (10 páginas en pantalla). Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap19.asp>.

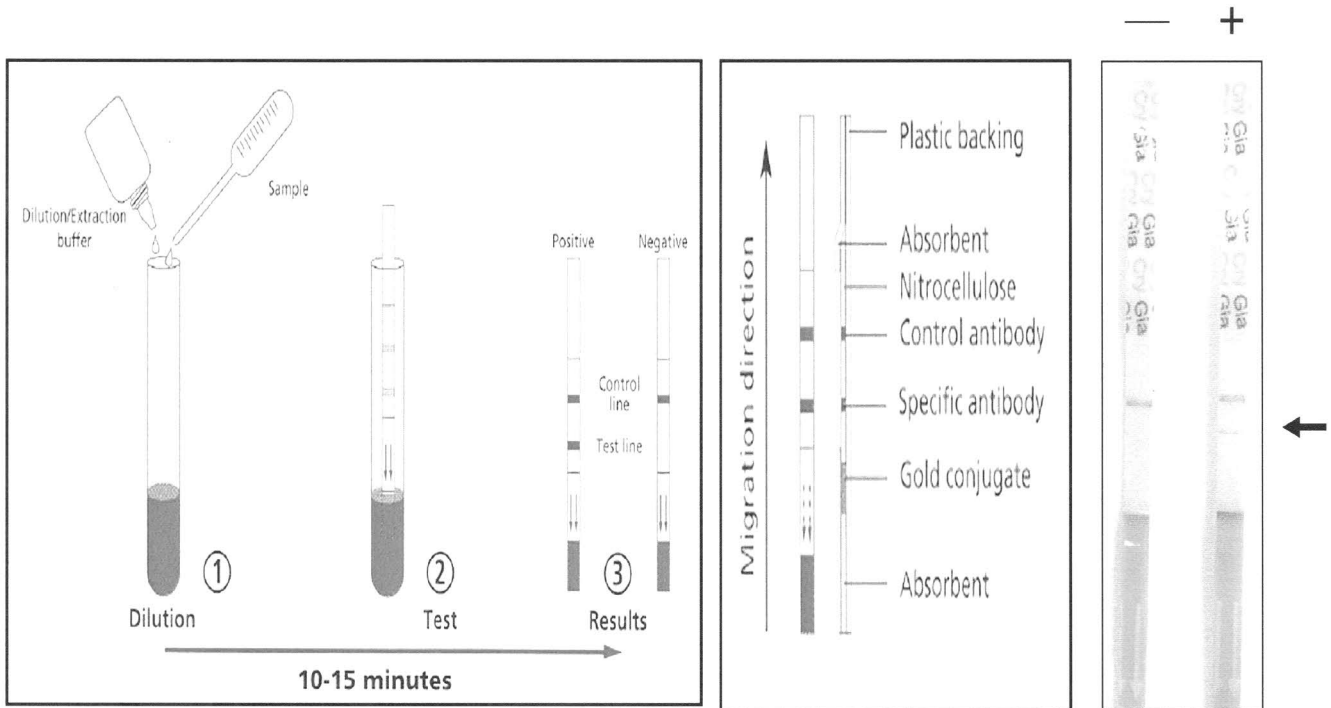
ANEXO # 2



Esquema de la técnica de inmunocromatografía

Fuente: Marín M. Prácticas de Tecnología y Caracterización de Productos Lácteos. Práctica 8: Inmunocromatografía (consultado el 01 de febrero de 2010); (01 página en pantalla). Disponible en: http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/mariamc/lacteos/practica8.htm.

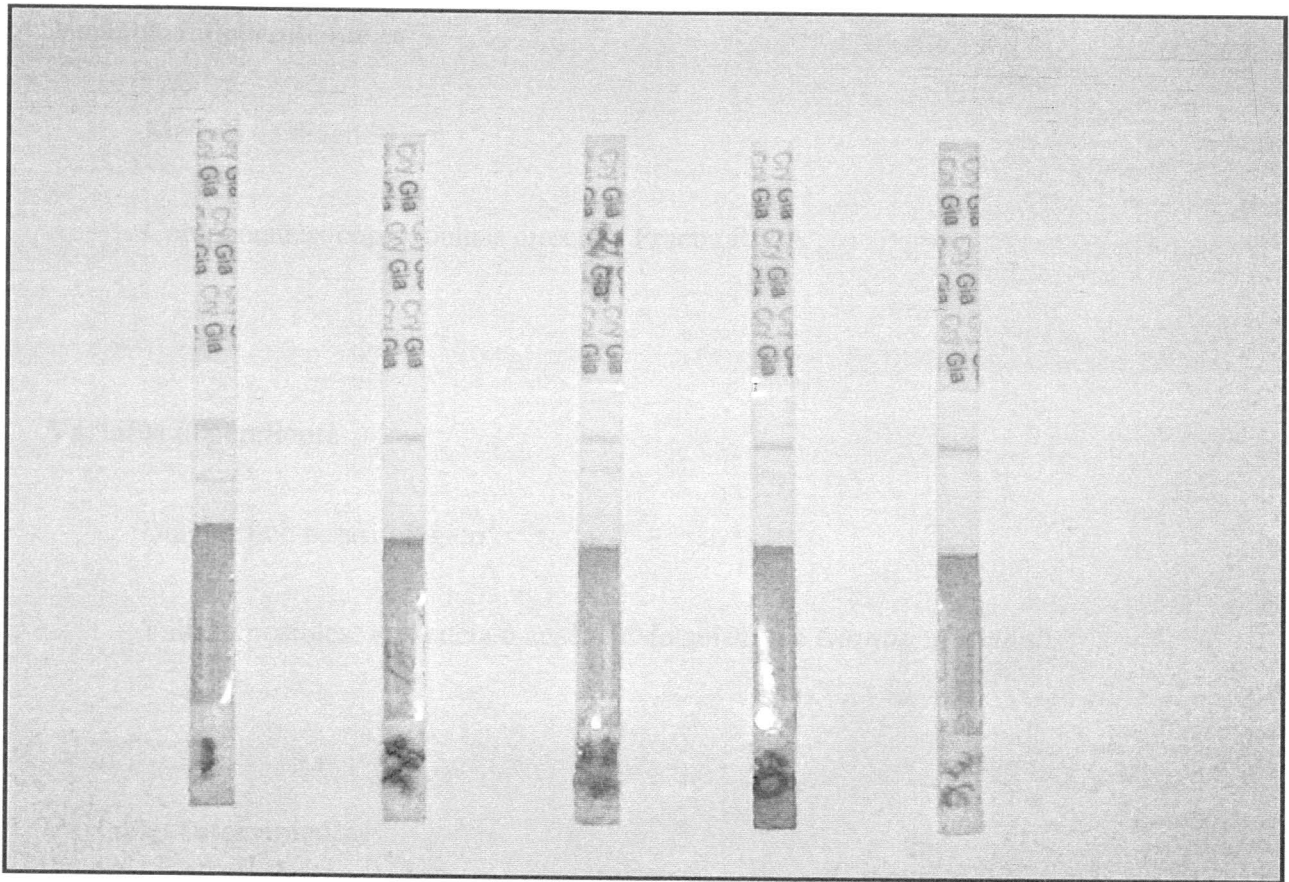
ANEXO # 3



Prueba RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi

Fuente: RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi. Art. N° N 1123. R Biopharm AG. Landwehrstr, Alemania (consultado el 01 de febrero de 2010); (9 páginas en pantalla). Disponible en: http://www.corpodiagnostics.com/user/N1123_RidaQuick%20Cryptosporidium-Giardia%20Combi_ES_04_11_18_à.pdf.

ANEXO # 4



Prueba RIDA® Quick Cryptosporidium/Giardia combi

Fuente: Fotos de María Felicia León Sánchez (autora de la investigación)

ANEXO # 5

Variables del estudio

Variable independiente

Método de diagnóstico

Componentes: coproanálisis directo y Prueba RIDA

Variable dependiente

Diagnóstico parasitológico

Valores posibles: Presencia o ausencia de quistes de *Giardia intestinalis*

Variables intervinientes

Edad

Valores posibles: edad en años

Sexo Valores posibles: masculino/femenino