

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE SALUD PUBLICA E HISTORIA DE LA CIENCIA

(AREA DE MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PUBLICA)

**SEROPREVALENCIA DE LA
GIARDIASIS EN ESCOLARES DE UNA
COMUNIDAD RURAL DE LA
PROVINCIA DE CUENCA**

Doctorando: María Teresa Jarabo García

Directores: Dr. Manuel Domínguez Carmona

Dra. Margarita Romero Martín

Madrid, Enero de 1996

AGRADECIMIENTOS

A todos mis compañeros del Centro de Salud de Mota del Cuervo por su colaboración en la recogida de las heces.

Al laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Farmacia por su ayuda en el aprendizaje de las técnicas de inmunofluorescencia.

Al profesor Vasallo por su ayuda en la identificación del parásito.

Al laboratorio Regional Agropecuario de Albaladejito de Cuenca, dependiente de la Consejería de Agricultura y Medio Ambiente de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha por las facilidades prestadas en el uso del microscopio de inmunofluorescencia.

A mi prima M^aJesús Torrijos Gascueña por su colaboración en la realización de los esquemas.

Al Dr.Manuel Domínguez Carmona y la Dra.Margarita Romero Martín por su constante apoyo en la realización de esta Tesis.

Al Dr.Jesús Ildefonso García Morán por su gran ayuda en la iniciación en el campo de la investigación.

INDICE

| | Páginas |
|--|---------|
| I. INTRODUCCION | 1 |
| 1.1. Importancia de la giardiasis desde el punto de vista de la Salud Pública. | 2 |
| 1.2. Epidemiología de la giardiasis. | 4 |
| 1.2.1. Prevalencia en distintas partes del mundo. | 4 |
| 1.2.2. Transmisión. | 7 |
| 1.2.3. Prevención y medidas de control. | 11 |
| 1.3. Características generales del parásito que justifican la parasitación comunitaria. | 14 |
| 1.3.1. Taxonomía. | 14 |
| 1.3.2. Modo de reproducción. | 14 |
| 1.3.3. Posición filogenética. | 14 |
| 1.3.4. Morfología. | 14 |
| 1.3.5. Ciclo vital. | 20 |
| 1.3.6. Endosimbiontes. | 22 |
| 1.3.7. Diagnóstico. | 22 |
| 1.3.8. Clínica. | 23 |
| 1.3.9. Patogenia. | 23 |
| 1.3.10. Respuesta del huésped a la parasitación por Giardia. | 26 |
| 1.4. Consideraciones sobre la eficacia de las pruebas diagnósticas. | 30 |
| II. JUSTIFICACION | 32 |
| III. OBJETIVOS | 35 |
| 3.1. Objetivo general. | 36 |
| 3.2. Objetivos específicos. | 36 |
| IV. PERSONAS, MATERIAL Y METODOS | 38 |

| | |
|---|----|
| 4.1. Personas. | 39 |
| 4.2. Material y métodos. | 42 |
| 4.3. Tratamiento estadístico de los datos. | 47 |
| V. RESULTADOS | 49 |
| 5.1. Estudio descriptivo de la muestra. | 50 |
| 5.2. Edad y sexo. | 53 |
| 5.3. Escolarización. | 56 |
| 5.3.1. Guardería. | 56 |
| 5.3.2. Colegio. | 57 |
| 5.4. Síntomas. | 58 |
| 5.5. Número de muestras parasitadas. | 62 |
| 5.6. Estudio de familiares. | 63 |
| 5.6.1. Familiares de niños parasitados. | 63 |
| 5.6.2. Familiares de niños no parasitados. | 63 |
| 5.6.3. Encuesta epidemiológica. | 65 |
| 5.7. Estudio inmunológico. | 67 |
| 5.8. Evaluación de las pruebas diagnósticas | 69 |
| VI. DISCUSION | 70 |
| VII. CONCLUSIONES | 94 |
| VIII. BIBLIOGRAFIA | 97 |

FIGURAS

- Fig.1.Mecanismos de transmisión de la Giardia lamblia.
- Fig.2.Morfología del trofozoíto de Giardia lamblia.
- Fig.3.Quiste de Giardia lamblia en heces.
- Fig.4.Quiste de Giardia lamblia en heces.
- Fig.5.Ciclo vital de la Giardia lamblia.
- Fig.6.Quistes de Giardia lamblia en heces.
- Fig.7.Quistes de Giardia lamblia en heces.
- Fig.8.Número total de niños de la población censal y muestra por intervalos de edad.
- Fig.9.Quistes de Giardia lamblia en heces.
- Fig.10.Quistes de Giardia lamblia en heces.
- Fig.11.Distribución de los parasitados/sexo.
- Fig.12.Distribución de los parasitados/intervalos edad/sexo.
- Fig.13.Parasitados sexo/guardería.
- Fig.14.Número de parasitados y no parasitados según lugar de escolarización.
- Fig.15.Número de síntomas/niño.
- Fig.16.Frecuencia de síntomas.
- Fig.17.Distribución del DAR y diarrea/intervalos de edad.
- Fig.18.Número de muestras parasitadas/niño.
- Fig.19.Origen del agua/familiares no parasitados y parasitados.
- Fig.20.Distribución de los títulos de inmunoglobulinas.
- Fig.21.Títulos de inmunoglobulinas en sintomáticos y asintomáticos.

TABLAS

TABLA I. Total de niños de la población por edad y sexo.

TABLA II. Total de niños de la muestra por edad y sexo.

TABLA III. Porcentaje de parasitados por intervalos de edad.

TABLA IV. Intervalos de edad/síntomas.

TABLA V. Síntomas/sexo.

TABLA VI. Parasitación/unidad familiar de niños parasitados.

TABLA VII. Parasitación/unidad familiar de niños no
parasitados.

TABLA VIII. Encuesta epidemiológica.

TABLA IX. Cálculo de los índices diagnósticos.

TABLA X. Síntomas referidos por diversos autores en la
parasitación por *Giardia lamblia*.

TABLA XI. IFI en el diagnóstico de la giardiasis.

ABREVIATURAS

- EE.UU. Estados Unidos.
- U.S.A. Estados Unidos de América.
- Ac. Anticuerpo.
- IgAs. Inmunoglobulina A secretora.
- GLV. Virus Giardia lamblia.
- dsRNS. doble cadena de ácido ribonucleíco.
- ELISA. Enzimoimmunoanálisis
- PCR. Reacción en cadena de la polimerasa.
- IgA. Inmunoglobulina A.
- IgM. Inmunoglobulina M.
- IgG. Inmunoglobulina G.
- IgE. Inmunoglobulina E.
- VSPs. Proteínas de superficie específica variable.
- DAR. Dolor abdominal recurrente.
- IFI. Inmunofluorescencia indirecta.
- M. Media aritmética.
- DT. Desviación típica.
- IC. Intervalo de confianza
- R. Rango.
- VPP. Valor predictivo positivo.
- VPN. Valor predictivo negativo.
- CDC. Centro para el Control y Prevención de enfermedades de Atlanta.
- DA. Diarrea aguda.

INTRODUCCION

1.1.Importancia de la giardiasis desde el punto de vista de la Salud Pública.

La giardiasis es causa de morbilidad en millones de sujetos sanos, pero rara vez causa minusvalías graves (132).

Se ha estimado que anualmente ocurren aproximadamente 200 millones de infecciones en Africa, Asia y América Latina (133). En E.E.U.U. y en el Reino Unido es la parasitación intestinal del hombre de la que se informa más comunmente (132).

En 1983 en U.S.A. se identificó a la giardia como causante del 68% de los brotes de diarrea transmitidos por el agua (3). En 1984 se advirtió a más de 250.000 personas de Pennsylvania que hirvieran el agua potable ya que los quistes son resistentes a la cloración (35).

En climas templados la infección puede ser aguda y persistente en personas que padecen alguna inmunodeficiencia (141), y en algunas zonas se sospecha que haya resistencia a ciertos fármacos.

Entre los factores que influyen en las tasas de morbilidad hay que señalar: exposición primaria "versus" exposición secundaria, edad, estado nutricional e inmunológico, infecciones concurrentes, dosis infectiva y tal vez las diferentes cepas de este microorganismo (88) (190). Todos estos factores pueden estar modulados por condiciones estacionales y climáticas (9).

Aunque en una proporción importante de personas cursa de manera asintomática, es probable que cada año unas 500.000 personas padezcan giardiasis sintomática (132).

Esta infección es causa frecuente de diarrea aguda y crónica en los niños de países en vías de desarrollo (87) (132), principalmente los que acuden a guarderías y de edad inferior a 3 años (146).

Hay datos que indican que interfiere con la absorción intestinal de nutrientes, retraso en el desarrollo y crecimiento del niño (57) (87) (101) (119). En países desarrollados, ni el estado de portador ni excretor de quistes comporta impacto nutricional (164) (184).

La elevada prevalencia en niños en comparación con los adultos en áreas endémicas, indica que puede adquirirse cierto grado de inmunidad protectora contra la infección (57) (87).

Parece que los AC IgAs presentes en la leche materna pueden proteger a los lactantes contra la infección (73) (88) (123) (131).

Varios experimentos y observaciones clínicas han confirmado que su desaparición espontánea se debe principalmente a procesos inmunológicos.

La infección varía inversamente con el estatus socioeconómico siendo más alta en regiones donde las aguas de abastecimiento son pobres o no existen y la sanidad e higiene son deficientes (87) (119) (121).

1.2.Epidemiología de la giardiasis.

1.2.1.Prevalencia en distintas partes del mundo.

La giardiasis puede ser endémica sobre todo en países subdesarrollados y grupos socio-económicos inferiores o bien presentarse de manera epidémica (50).

Las tasas de prevalencia fluctúan desde menos de un 1% hasta más del 50% en función de la ubicación geográfica de la población, tipo prevalente de transmisión,técnica utilizada para el diagnóstico,factores socio-sanitarios, edad,distribución urbana o rural, estacionalidad,grupos de riesgo,etc (9) (87).

Es posible que haya subestimaciones de la misma o resultados que induzcan a error por la excreción intermitente de quistes o la no detección de los mismos cuando se examina una sola muestra de heces (132).

*Distribución geográfica

En E.E.U.U.desde un 1% hasta un 20% de la población está infectada (80).En Europa se barajan cifras que oscilan entre 4-10% según las zonas (64).Black y col (18) han encontrado una prevalencia endémica de 29%-38% en 2 guarderías de Atlanta en niños de 6 meses a 3,5 años, contrastando con un 2% en la población general.

Pickering y col. (147) en varias guarderías de Houston (Texas) en niños de 1 año a 36 meses han encontrado una parasitación de 21%-36%.Resultados similares han sido en-

contrados por un equipo israelí (164). En Montreal (Quebec), un 23% estaban parasitados (184).

En países subdesarrollados oscila desde un 5% en Indonesia hasta un 43% en las islas Seychelles (15). En Bangladesh 21% en una única muestra de heces en una población urbana (73).

En la India 20%, Thailandia 21%, Guatemala 20%, Zimbabwe 22% y en Egipto 35% (8) (57) (118) (168).

En España es uno de los parásitos más frecuentemente encontrado en los niños. Se considera conveniente estudiar a los familiares de éstos para detectar portadores asintomáticos (7).

La prevalencia varía en función del grupo de población estudiado y provincia desde un 2,7% en niños de la Bahía de Cádiz (65) hasta un 56,79% en preescolares de Badajoz (185).

García Rodríguez y col. encuentran en Salamanca un 9,6% en población hospitalaria (69); Serra en Barcelona un 27,1% en guarderías (167); Díaz en Granada 4,9% en preescolares, escolares y adultos (44); Ares-Mazas en Galicia 8,7% (10); Castaño Pascual en el barrio de la Fortuna (Madrid) 13,92% en escolares (27). Portús y Prats en Barcelona 10,9% (152); Pardo en Galicia 7,5% (137); Catalán en escolares de Castellón 7,24% (28); Batista en Santa Cruz de Tenerife en preescolares 12% y 0% en adultos (13); Valladares en el archipiélago canario 16,1% (183); Vasallo Matilla en tres localidades rurales de la provincia de Toledo 23,2% (186); Goiriena de Gandarias en escolares de Bilbao 7,45% (74); Casabona y col. encuentran en una guardería infantil

del barrio de Bellvitge en un brote epidémico un 67% de niños sintomáticos y 23% de asintomáticos y en otra guardería del mismo barrio un 9% de asintomáticos (25); López Brea desde 1978-1981 encuentra 10,4% en el servicio de microbiología del hospital Ramón y Cajal de Madrid (114); Fernández García en Jerez de la Frontera (Cádiz) 26,8% en familiares de niños parasitados (59); Cerezo en Asturias encuentra un 20,8% en familiares (29) y Arancón Viguera también en familiares un 7,4% en Coslada (Madrid) (7).

* Edad de distribución

La edad de máxima prevalencia varía de un país a otro (132), para algunos autores se sitúa entre 2 y 6 años, siendo a los 5 años cuando se observa el mayor número de casos. Por encima de los 10 años se reduce; en los adultos la máxima incidencia está entre 30-39 años, siendo rara después de los 40 años (64) (117).

En países en vías de desarrollo los lactantes pueden infectarse tempranamente (3 meses) (73).

Esta alta prevalencia en niños se explica por la falta de inmunidad y gran riesgo de infección.

* Distribución urbana y rural

La prevalencia parece diferenciarse entre zonas rurales y urbanas, siendo más alta en ésta última (81) (101). Los factores que explican esto son:

- alta contaminación medio ambiental y fecal
- falta de agua potable
- superpoblación y hacinamiento (87) (101).

Sin embargo, Ares Mazas en Galicia encuentra una diferencia estadísticamente significativa a favor del medio rural (10).

* Estacionalidad

Fontaine y colaboradores en 1984 informan de las fluctuaciones estacionales observadas para Giardia Lamblia en la región francesa de Gard (61). La prevalencia media de un 6%, presenta un recrudecimiento invernal con un mínimo en primavera (61) (69).

A pesar de esto, otros autores han comunicado otros patrones de estacionalidad (105) (137), e incluso algunos no encuentran ningún patrón definido (44).

1.2.2. Transmisión.

La infección puede producirse con la ingestión de tan sólo 10 quistes de Giardia (156).

Actualmente se aceptan como mecanismos de transmisión: el agua, los alimentos, el contacto persona a persona, los animales y se piensa que el portador asintomático o subclínico desempeña un papel importante en la transmisión (7) (18) (50) (145). Es decir utiliza mecanismos de transmisión directos e indirectos.

* Transmisión directa: contacto persona a persona.

Ocurre con cierta frecuencia y constituye el mecanismo de mantenimiento más importante de la enfermedad endémica. Es la principal vía de transmisión de la giardiasis, lo que explica la alta prevalencia en varones homosexuales, y en

niños de corta edad, debido a sus hábitos higiénicos, falta de inmunidad y elevado grado de convivencia (50) (64).

Hay datos epidemiológicos que sugieren la transmisión feco-oral del parásito de niño a niño en guarderías y de los niños infectados a otros miembros familiares (18). Este tipo de transmisión también es frecuente en otras instituciones (109).

* Transmisión indirecta.

a) Agua. Numerosos casos de transmisión de la Giardia se han asociado con el agua contaminada; en USA la giardiasis es la enfermedad más frecuentemente diagnosticada transmitida por el agua (111). Se han descrito brotes en Canadá, Europa y Nueva Zelanda (5) (62) (93) (128). La ingestión de quistes presentes en ésta es también la causa de la elevada incidencia de giardiasis entre los viajeros que regresan de países del Tercer Mundo (50) (64).

En USA se vió que la contaminación del agua de abastecimiento resultó del tratamiento inadecuado de la misma o contaminación con aguas residuales (35). Parece que las concentraciones requeridas de cloro son elevadas y se precisa un largo tiempo de contacto para destruir los quistes (37).

Se ha implicado a algunos animales salvajes, especialmente el castor y el ratón almizclero como reservorios de infección (37). El papel de los mismos en la transmisión por el agua es controvertido (178).

Actualmente una de las líneas de trabajo de mayor interés es la cuantificación de la concentración de quistes

viables de Giardia lamblia tanto en los recursos acuíferos como en el agua tratada. Ello sugiere un reto para la Salud Pública en el momento de seleccionar los recursos o decidir sobre el tratamiento más adecuado.

b) Alimentos. Este mecanismo es menos importante que los anteriores.

Se han detectado quistes en frutas y hortalizas tratadas con excretas utilizadas como fertilizantes (132).

También puede ocurrir la contaminación durante la preparación de los alimentos, ya que los manipuladores de éstos pueden actuar como reservorios de la misma (142).

Se han descrito varios brotes asociados con la ingestión de alimentos (104) (136) (142).

Las moscas pueden actuar como vectores de quistes a partir de las heces (64).

c) Animales. Está muy controvertido el papel de ciertas especies animales en su transmisión (47) (178) (Fig.1).

Fig.1. MECANISMOS DE TRANSMISION DE LA GIARDIA
LAMBLIA.

1.2.3. Prevención y medidas de control.

* Prevención de la transmisión por el agua

El control y eliminación en los procesos de tratamiento de agua potable de los quistes de Giardia lamblia ha sido y es un reto para los responsables de las estaciones de tratamiento (92) (113). Es conocida la resistencia que presentan los quistes a los procesos de desinfección con la dosis y tiempo de contacto utilizados en los programas de vigilancia de la calidad de las aguas de consumo público.

La eliminación de quistes requiere del denominado sistema de multibarreras para lograr un nivel de efectividad deseable. Las dos barreras que más influyen en la reducción de los quistes viables, son la filtración y desinfección, siempre que se realicen de forma conjunta y en consonancia con la calidad del agua que se vaya a tratar; esto es su turbidez, concentración de quistes y temperatura (36).

El agua potable a veces se contamina al mezclarse con aguas residuales; para evitar esto es preciso un correcto sistema de alcantarillado y un tratamiento adecuado de las mismas (4) (148).

En zonas donde estas medidas higiénicas no estén garantizadas, se debe proceder a beber agua embotellada o bien hervirla durante 1-10 minutos o tratarla químicamente con tintura de yodo al 2% (4) (99) (198).

* Prevención de la transmisión por alimentos

En ocasiones los alimentos pueden contaminarse durante

su manipulación y almacenamiento, circunstancia que puede obviarse con un lavado adecuado de manos y screening de los manipuladores de alimentos; sin embargo, existen otros productos como las frutas y hortalizas que vienen contaminadas desde su origen, por lo cual no se aconseja ingerirlas si previamente no están cocidas o peladas (4) (20) (132).

En este sentido es preciso recordar el control de insectos que pueden contaminarse con las heces humanas y secundariamente contaminar la comida o el agua (108).

* Prevención de la transmisión persona a persona o feco-oral.

Cuidar la higiene personal y proporcionar un medio ambiente libre de contaminación fecal. Lavado de las manos de niños y empleados después de cada cambio de pañales o actividades relacionadas con el aseo (147). Black y col. (17) observaron una disminución de un 50% de diarrea gracias a un programa de lavado de las manos en dos guarderías.

* Eliminación de los reservorios y control de la enfermedad.

Aunque existe acuerdo general que todas las personas con giardiasis sintomática deben ser tratadas, sigue siendo controvertido el tratamiento de los asintomáticos (38) (145). Ante la posible reactivación de la enfermedad y su transmisión a personas sanas, parece aconsejable su tratamiento (126), sobre todo si en ellos concurren determi-

nadas condiciones epidemiológicas como:manipuladores de alimentos,familiares,contacto con colectividades infantiles (4).

La quimioprofilaxis no es eficaz para prevenir la adquisición de la giardiasis (148).

El desarrollo de una vacuna puede ser importante para proteger a los grupos de población más vulnerables (viajeros a países del Tercer Mundo,niños residentes en áreas endémicas).Su desarrollo está aún en fase experimental (48).

1.3. Características generales del parásito que justifican la parasitación comunitaria.

1.3.1. Taxonomía.

Las características del género *Giardia* han sido claramente definidas y aceptadas (120). Aunque se han descrito dentro de este género 40 especies, se han estudiado especialmente tres: *Giardia agilis* en los anfibios, *Giardia muris* en roedores, pájaros y reptiles y la *Giardia lamblia* en mamíferos (1) (180).

1.3.2. Modo de reproducción.

La *Giardia lamblia* tiene una reproducción asexual por un proceso de fisión binaria. Diversos autores sugieren que una fase sexual puede estar presente en este parásito (177).

1.3.3. Posición filogenética.

La secuencia de su pequeña subunidad rRNA es marcadamente diferente de la de otros protozoos, y en base a este dato ha sido considerado el eucariote más primitivo (1) (180).

1.3.4. Morfología.

La *Giardia lamblia* tiene dos formas: trofozoíto y quiste. El trofozoíto es un organismo binucleado de forma piriforme que mide aproximadamente 10-15 μ m de largo por 5-

8 mm de ancho (1). Tiene 4 pares de flagelos (anterior, caudal, posterior y ventral) (1) (181). Dos cuerpos medianos en forma de garra y un disco ventral mediante el cual se fija firmemente a la superficie de la mucosa intestinal (50) (181). Está constituido por un citoesqueleto de microtúbulos en espiral que contienen tubulina, unidos en su parte distal por unas placas marginales paralelas a la membrana del citoplasma, que le dan rigidez al disco (1) (50). Perpendiculares a los microtúbulos se encuentran los microrribosomas que contienen giardinas (proteínas giardia específicas) (58) (138).

En el citoplasma hay aparato de Golgi (72) y vacuolas que contienen diversas enzimas (58) (Fig.2).

Fig.2. MORFOLOGIA DEL TROFOZOITO

A. Flagelo caudal B. Cuerpo medio C. Disco ventral D. Flagelo ventrolateral E. Cuerpo basal
F. Núcleo G. Cresta lateral H. Flagelo anterolateral I. Flagelo posterolateral
J. Flagelo ventral

El quiste mide aproximadamente 8-17 micras de largo por 5-10 micras de ancho. Tienen forma ovoide cuando son jóvenes, cambiando a elipsoidales al madurar (50) (64). Está compuesto de una pared gruesa, 2-4 núcleos dependiendo de si son formas jóvenes o maduras con cuerpos basales y filamentos axiales entre dichos núcleos (50) (64) (181) (Fig.3 y 4).

Fig.3.QUISTE DE GIARDIA LAMBLIA EN HECES

Tinción con Negro de Clorazol (x 660)

Fig.4.QUISTE DE GIARDIA LAMBLIA EN HECES

Tinción con Negro de Clorazol (x 660)

1.3.5.Ciclo vital.

La Giardia lamblia tiene un ciclo vital que consiste en un quiste infectivo (forma de transmisión) y un trofozoíto (forma patógena) (1) (50) (85) (181). Tras ingerir los quistes por vía oral llegan al estómago, donde comienza la exquistación que consiste en una lisis de la pared a un pH de 2, completándose en duodeno (50) (58). Se forman dos trofozoítos que se dividen por fisión binaria longitudinal en intestino delgado (duodeno y primera porción de yeyuno) (1) (50) (117); éstos se fijan a la mucosa intestinal por medio de su disco adhesivo (117) (181).

Los trofozoítos libres suelen ser arrastrados por el tránsito intestinal hacia el intestino grueso, pudiendo ser eliminados con las heces en caso de diarrea (64) (85).

Si el peristaltismo es normal, se enquistan, retraen sus flagelos, se recubren de una membrana hialina protectora y sufren una división nuclear hasta formar cuatro núcleos (50) (64) (117).

Posteriormente los quistes serán expulsados en las heces, no siendo infectantes inicialmente ya que deben sufrir un proceso de maduración que dura horas o días (50) (181).

El ciclo finaliza cuando los quistes son ingeridos por otro huésped, iniciándose de nuevo los cambios descritos (1) (50) (Fig.5).

Fig.5. CICLO VITAL DE LA GIARDIA LAMBLIA

1.3.6. Endosimbiontes.

Se han encontrado variedad de bacterias, virus y micoplasmas en trofozoítos y quistes de cultivos (170). El más interesante es un Giardia-virus (GLV) que posee una doble cadena de RNA (dsRNA) (191). No se ha encontrado relación entre la infección por el GLV y la virulencia de la Giardia (192).

1.3.7. Diagnóstico.

El método tradicional, exámen de heces mediante microscopía óptica, constituye la prueba más simple y común (199), sin que la no identificación del parásito excluya de forma absoluta la existencia de infección (117). Con el análisis de una sola muestra se puede llegar al diagnóstico en el 50-75% de los casos, al 90% con dos y al 97% con tres muestras recogidas en días alternos debido a la excreción intermitente y variable de los quistes (1) (199).

Otros métodos como el aspirado del líquido duodenal, biopsia o entero-test son más invasivos y costosos (14) (163).

Los mayores avances en el diagnóstico de la giardiasis se basan en el desarrollo de tests inmunológicos para detectar antígenos de Giardia en heces y anticuerpos séricos, siendo la inmunofluorescencia indirecta y ELISA los más utilizados (4) (117).

La detección de antígenos en heces tiene una sensibilidad de un 89-98% y se considera un método eficaz y rápido para el diagnóstico de giardiasis (145).

Otra técnica en fase experimental es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que ayuda a distinguir cepas patógenas de las no patógenas (116).

1.3.8. Clínica.

Las manifestaciones clínicas de la giardiasis varían desde infección asintomática (más del 75%) y diarrea aguda hasta diarrea crónica con malabsorción (51) (117) (145); dependiendo éstas de la tolerancia entre el parásito y el huésped (117).

El período de incubación puede variar desde 1 a 45 días (4). Lo más típico de la enfermedad son los signos y síntomas digestivos tales como diarrea caracterizada por heces abundantes, acuosas, de olor fétido, pálidas y de aspecto grasiento; estreñimiento, dolor abdominal recurrente, pérdida de peso, náuseas, vómitos y fiebre (51) (64) (85) (99) (117).

También se han descrito manifestaciones extradigestivas como urticaria crónica con eosinofilia (70), urticaria aguda, eosinofilia y artropatía (55) (135), artritis reactiva (1) (77) (115), neuropatía periférica (51) (117), asma bronquial, iridociclítis y adenitis mesentérica (1) (4) (117).

Estas manifestaciones son probablemente consecuencia de la respuesta inmune a la infección (1).

1.3.9. Patogenia.

El conocimiento de la patogenia de la giardiasis en el hombre sigue siendo incompleto y controvertido (106) (117).

Probablemente estén implicados numerosos factores dependientes tanto del huésped como del parásito (117).

a) Factores dependientes del huésped.

Ciertas alteraciones hacen más susceptible al huésped a presentar la enfermedad, como trastornos del sistema inmune con deficiencias de inmunoglobulinas, sobre todo IgA secretora intestinal (64) (117). Los individuos con deficiencia combinada de IgA e IgM, hiperplasia linfoide de intestino delgado, escasez de células plasmáticas y los que padecen hipo o aclorhidria, etc (64).

También se ha demostrado que este parasitismo es más frecuente en sujetos con antígenos de histocompatibilidad HLA-A1 y B12 y en los genotipos A1/A2 y B12/B27 (64).

Ultimamente se ha destacado el papel del estado nutricional y la dieta (117). Se sabe que la malnutrición la favorece, por una posible disminución de los mecanismos de defensa del huésped; del mismo modo, la parasitación puede influir en la nutrición del mismo (64) (117).

Experimentalmente se ha comprobado la influencia de la composición de la dieta en la intensidad de la parasitosis, viéndose que una dieta deficiente en lípidos y proteínas parece reducir el grado de parasitación, mientras que una dieta pobre en vitaminas retrasa la aparición clínica de la misma (79) (95).

Las sales biliares y el moco intestinal pueden desempeñar cierto papel en la colonización del intestino, pues parece ser que facilitan la supervivencia del parásito en presencia de productos lipolíticos tóxicos y le protegen frente a la acción de la leche humana (56).

b) Factores relacionados con el parásito.

Entre los mismos tenemos: número de quistes (inóculo) (50) (51), infecciones repetidas o cepas de diferente patogenicidad (51) y bloqueo de la superficie mucosa por una gran población de parásitos (50) (64) (117).

El mecanismo de la diarrea y malabsorción es multifactorial e incluye tanto factores intraluminales como parietales. Entre los primeros tenemos, la depleción del "pool" de sales biliares (106), la función pancreática exocrina anómala y trastornos de la motilidad intestinal inducidos por la prostaglandina E2 (51) (54) (106).

Las alteraciones a nivel parietal constituyen la lesión más importante (106). Sin embargo, parece poco probable que los mínimos daños histológicos observados tales como cambios en las microvellosidades, mayor producción de moco, aumento de linfocitos intraepiteliales y de otras células inflamatorias e inhibición de la actividad de las disacaridasas puedan por sí solas explicar la diarrea (54) (106) (117).

Una hipótesis que se baraja es que la Giardia elabore toxinas o productos metabólicos tóxicos para la mucosa intestinal (106). Por último hay evidencias de que el sistema inmunitario puede estar implicado en las lesiones de la mucosa (50) (106) (117), ya que el grado de infiltración linfocitaria se correlaciona con el grado de disfunción intestinal; aunque también pueden participar fenómenos locales de anafilaxia (117).

1.3.10. Respuesta del huésped a la parasitación por Giardia.

La variabilidad en la respuesta clínica a la giardiasis viene modulada por mecanismos tanto inmunes como no inmunes (90).

a) Mecanismos no inmunes. Se han detectado varios:

*sales biliares, además de su efecto trófico (56) de manera indirecta activan una lipasa presente en la leche materna que desdobla los triglicéridos en ácidos grasos citotóxicos para los trofozoítos (53) (71).

*pH ácido, moco y la motilidad intestinal intervienen en el aclaramiento del parásito (53).

*barrera epitelial. Las uniones intercelulares y la membrana basal se oponen a la invasión del parásito (60).

*presencia de otros parásitos como la *Cándida albicans*, que favorece su desarrollo y lo protege de su destrucción (122).

*líquido duodenal que resulta tóxico por los productos de liberación de la lipólisis (43).

b) Mecanismos inmunes. La respuesta inmune del huésped desempeña un papel importante en la protección de la enfermedad, aclaramiento del parásito y en última instancia en la patogenia (54). En este sentido su prevalencia es más alta en grupos de edad más jóvenes y comienza a declinar en la adolescencia temprana, posiblemente cuando se adquiere la inmunidad protectora (54) (90).

Ambas inmunidades, celular y humoral, están implicadas en la respuesta del huésped.

La inmunidad celular ha sido estudiada en el ratón infectado experimentalmente con *Giardia muris*. En humanos mediante biopsia se ha visto un aumento de linfocitos intraepiteliales en intestino delgado. Este aumento es máximo a las dos semanas del inicio de la infección y su número declina con el tratamiento y aclaramiento del parásito (102).

También se ha visto como los mastocitos intervienen en el aclaramiento del parásito a través de sus mediadores (125).

La inmunidad humoral puede ser local y sistémica. La inmunidad local está representada por la IgA secretora (IgAs) que actúa inhibiendo la adherencia del parásito al epitelio e impidiendo la invasión de la mucosa por sus antígenos. En los pacientes infectados se encuentran aumentadas la células plasmáticas productoras de IgA secretora (150) (203).

Existen pocos estudios sobre la importancia de esta respuesta en la giardiasis humana (54), habiéndose realizado en líquido duodenal mediante ELISA e IF. Parece ser que los pacientes con déficit de IgAs son más susceptibles a la infección por *Giardia* (21) (54).

Se han encontrado anticuerpos anti-*Giardia* IgAs en la leche humana, que son los responsables de la protección de los niños alimentados al pecho frente a la giardiasis (protección pasiva) (131).

También la inmunidad humoral sistémica está implicada en la defensa del huésped. Esta depende de la producción de IgG, IgM e IgA; ocasionalmente se ha aportado el aumento de IgE (45).

La IgG está aumentada en más del 80% de pacientes con giardiasis, siendo los títulos más altos en áreas endémicas debido a la exposición repetida al parásito. Puede llegar a persistir durante meses o años. Su presencia no es útil para distinguir infección actual de pasada (189) (194).

La IgA está elevada en el 33% de pacientes, persistiendo durante poco tiempo aunque algunos opinan lo contrario (160). Es el marcador más útil de infección actual y su ausencia no la excluye (76).

La IgM se produce muy tempranamente pero disminuye tras 2-3 semanas del comienzo de la infección. Por lo que es útil para discriminar entre sujetos con infección actual o pasada, incluso en áreas altamente endémicas (75) (176).

c) Variación antigénica. Se ha podido demostrar que la *Giardia lamblia* experimenta una variación en sus antígenos de superficie tanto "in vitro" como "in vivo" (2) (129).

La variación antigénica "in vivo" puede contribuir a prolongar la infección, cambios en la virulencia o en su inmunogenicidad (2).

Han sido aislados y caracterizados una gran variedad de antígenos. Se cree que algunas proteínas de superficie y del citoesqueleto pueden comportarse como tales. Además existe una gran variabilidad en las características antigénicas entre distintos aislamientos. Esto puede desempeñar un papel importante en el desarrollo de métodos diagnósticos (179).

Algunas de las proteínas implicadas conocidas como VSPs (variant specific surface proteins) son únicas. La predominante es la VSP_{H7} (pm=58 kD). Diferentes VSPs tienen diferentes propiedades biológicas; se sabe que éstas

difieren en su susceptibilidad a las proteasas intestinales (tripsina, alfa-quimotripsina, etc) "in vivo" (129).

El significado de esta variación antigénica está por definir. Parece que la cronicidad de algunas infecciones puede ser explicada por éste fenómeno así como la resistencia al tratamiento que ocurre en algunos casos (1) (2).

1.4.Consideraciones sobre la eficacia de las pruebas diagnósticas.

El grado de certeza de un diagnóstico dependerá no sólo del nivel de conocimientos clínicos y epidemiológicos del médico, si no de su capacidad de concretarlos en un simple cálculo de probabilidades (151).

El proceso diagnóstico es en esencia un cálculo de probabilidades (153) (154) (172), en el que se utiliza muchas veces de manera inconsciente técnicas de análisis de decisiones clínicas (161).

La eficacia de una prueba diagnóstica es la capacidad que ésta tiene para señalar la presencia o ausencia de la enfermedad que se estudia. Esto se expresa mediante cuatro índices: sensibilidad, especificidad, valor predictivo de una prueba positiva (VPP), valor predictivo de una prueba negativa (VPN) y sus complementarios.

Estos índices se obtienen de la comparación de una prueba problema con una prueba de referencia (153) (154) (172).

La sensibilidad y especificidad son características intrínsecas a cada prueba diagnóstica, y por tanto siempre que se mantengan los mismos criterios pueden ser consideradas constantes (153). Ambas son útiles en los momentos iniciales del proceso diagnóstico cuando se trata de decidir que pruebas complementarias serían más eficaces para confirmar o descartar una sospecha clínica.

Un paso posterior es conocer la probabilidad de que el

paciente padezca o no la enfermedad una vez conocido el resultado de la prueba, es decir los valores predictivos o probabilidad postprueba. Estos valores predictivos dependen de la prevalencia de la enfermedad, por lo que su aplicación en contextos clínicos diferentes con distintas prevalencias puede conducir a errores clínicamente significativos (153) (154).

Por último, el cociente de probabilidades permite unificar la sensibilidad y especificidad, no se modifica con cambios en la prevalencia y puede ser aplicado a múltiples niveles de respuesta de una prueba (154).

JUSTIFICACION

La prevalencia de protozoos intestinales varía considerablemente según los diferentes grupos de población estudiados, dependiendo en gran medida de la edad, condiciones higiénico-sanitarias y socioeconómicas (74) (152) (183) (185) (186).

Actualmente los avances en infraestructura y educación sanitaria han conseguido disminuir su incidencia en nuestro país; sin embargo, sigue siendo la edad infantil propicia para el asentamiento de esta patología, debido a sus hábitos higiénicos, falta de inmunidad y elevado grado de convivencia en comunidades cerradas, esto facilita el riesgo de infección por protozoos vehiculados a través del agua o alimentos contaminados con heces y la aparición de brotes epidémicos en guarderías y centros escolares (166).

Entre los protozoos del intestino humano, la *Giardia lamblia* ocupa un lugar privilegiado en razón de la frecuencia con que se encuentra y su carácter patógeno (165).

Es un parásito de distribución universal, endémico en la mayoría de los países con bajas condiciones socioeconómicas (173), frecuente en la edad pediátrica, que se transmite por contacto persona a persona a través de un mecanismo feco-oral (50), por el agua de bebida, alimentos, animales (33) (50) y contacto sexual (homosexuales) (33).

Aunque la mayoría de los sujetos son asintomáticos, es a menudo causa frecuente de diarrea y disconfort abdominal (196).

La mayoría de los casos de giardiasis no ofrecen dificultad diagnóstica. El examen de heces sigue siendo la

prueba más utilizada para la identificación de este parásito; el resto de pruebas diagnósticas juegan un papel complementario (aspiración del líquido duodenal, biopsia, etc) (85).

Recientemente se han desarrollado tests inmunológicos para detectar anticuerpos anti giardia en suero y antígenos en heces (39), aunque tienen sus limitaciones y solamente se utilizan para estudios de seroprevalencia (98) (189).

Es una enfermedad de difícil control por: la vía de contacto indirecta (suelo, muebles, juguetes), gran número de portadores asintomáticos, no estando claro si deben aislarse o ser tratados (34) (46) (147), falsos negativos en heces cuando se examina una sola muestra (34), tratamiento ineficaz en un 5-15% de los casos y que tras sucesivas colonizaciones por este parásito el organismo acaba tolerándolo, dejando por ello de dar problemas (46).

OBJETIVOS

3.1.Objetivo general.

Valorar la presencia de Giardia lamblia en niños escolarizados de una zona rural, considerando sus aspectos epidemiológicos fundamentalmente variables medioambientales (atención en guardería y colegio) y características de persona.

3.2.Objetivos específicos.

A. Identificar la presencia de Giardia lamblia en heces de una muestra representativa de niños entre 1 y 14 años.

B. Buscar la posible asociación entre el hallazgo de la parasitación con los distintos intervalos de edad de los niños en relación con su atención social en guardería y colegio.

C. Describir si existen síntomas digestivos ligados a la parasitación e investigar su posible significación en función de la edad, lugar de atención social y escolar y número de muestras parasitadas.

D. Investigar el estado de portador de quistes de Giardia lamblia en miembros familiares de niños parasitados y no parasitados.

E. Analizar la respuesta sistémica humoral en una muestra representativa de individuos de todas las edades

con parásitos en heces y también en aquellos sin evidencia inmediata de parasitación.

F.Validez de las pruebas utilizadas en el diagnóstico de la giardiasis.

PERSONAS, MATERIAL
Y METODOS

4.1. Personas

El estudio se inició con la búsqueda del censo de la localidad de Mota del Cuervo (5644 habitantes; 2796 varones y 2848 mujeres). La distribución de la población por sectores económicos es: 40% agricultura, 13,3% industria, 14,6% construcción y 32,1% servicios, lo cual utilizando criterios demográficos y laborales indica que se trata de una población semi-rural (32).

La población del estudio está referida a niños entre 1-14 años cumplidos, suponiendo un total de 1134 niños (guardería=139) (colegio=995) al 1-3-1992 (Tabla I), pertenecientes a un nivel socioeconómico medio-bajo.

TABLA I

| EDAD | NIÑOS | NIÑAS | TOTAL |
|------|-------|-------|-------|
| 1 | 27 | 28 | 55 |
| 2 | 39 | 28 | 67 |
| 3 | 35 | 37 | 72 |
| 4 | 35 | 36 | 71 |
| 5 | 42 | 42 | 84 |
| 6 | 38 | 36 | 74 |
| 7 | 35 | 35 | 70 |
| 8 | 36 | 35 | 71 |
| 9 | 24 | 64 | 88 |
| 10 | 45 | 47 | 92 |
| 11 | 46 | 48 | 94 |
| 12 | 54 | 50 | 104 |
| 13 | 48 | 46 | 94 |
| 14 | 50 | 46 | 96 |

A partir de los datos obtenidos los primeros días del estudio en una consulta de Atención Primaria, se realizará un experimento piloto con 30 casos (N=30) para determinar el tamaño de la muestra necesario para el cálculo de la

prevalencia con una precisión del 5% ($d=0.05$) y un nivel de confianza del 95% ($Z=1.96$).

Se utilizará la fórmula del tamaño de la muestra para poblaciones finitas (42):

$$n = Z \cdot p \cdot q \cdot N / d \cdot (N-1) + Z \cdot (p \cdot q)$$

N =muestra del experimento piloto

p =proporción $q=1-p$

El tamaño de la muestra calculado mediante la fórmula precedente ha sido de 396 niños ($n_1=396$). Dicha muestra ha sido seleccionada de manera aleatoria (tabla de números aleatorios). El período de estudio ha estado comprendido desde el 1-III-1992 hasta el 30-XI-1994.

Una vez conocidos los niños que formarán parte de la muestra se procederá al correspondiente muestreo estratificado simple por edades y sexos (Tabla II).

TABLA II

| EDAD | NIÑOS | NIÑAS | TOTAL |
|------|-------|-------|-------|
| 1 | 10 | 9 | 19 |
| 2 | 15 | 8 | 23 |
| 3 | 12 | 14 | 26 |
| 4 | 12 | 13 | 25 |
| 5 | 15 | 15 | 30 |
| 6 | 14 | 13 | 27 |
| 7 | 11 | 13 | 24 |
| 8 | 13 | 12 | 25 |
| 9 | 10 | 21 | 31 |
| 10 | 15 | 17 | 32 |
| 11 | 17 | 16 | 33 |
| 12 | 21 | 14 | 35 |
| 13 | 17 | 16 | 33 |
| 14 | 21 | 12 | 33 |

A continuación se citó en consulta a los niños que resultaron elegidos para participar en el estudio (no hubo ausencias).

Para la recogida de datos y resultados se elaboró la correspondiente ficha epidemiológica individual en la cual se reseñaron los siguientes:

- * edad
- * sexo
- * lugar de atención social y/o escolar
- * presencia o ausencia de síntomas
- * quistes en heces
- * número de muestras parasitadas
- * respuesta inmunológica

Los síntomas fueron anotados según la referencia subjetiva de la persona que acompañó al niño, particularmente en lo que se refirió a: dolor abdominal recurrente (DAR), anorexia, estreñimiento, vómitos y diarrea aguda (DA).

En relación a la diarrea, se estableció objetivamente por parte de la doctorando en todos los casos su relación o no con la parasitación, teniendo en cuenta el criterio de Craft (34) sobre la frecuencia y aspectos cualitativos de las heces tales como dos o más deposiciones, acuosas, de olor pútrido, aspecto grasiento, pálidas, sin moco ni sangre.

En ausencia de tales síntomas la infección se definió como asintomática.

Posteriormente se estudiaron los componentes del núcleo familiar de los niños que resultaron tanto parasitados (155 familiares entre padres, madres y hermanos) como no parasitados (150 familiares), resultando en ambos casos representativo del total de niños. Se realizó una encuesta a cada unidad familiar para conocer algunos

hábitos higiénico-sanitarios y procedencia del consumo de agua.

Se elaboró una ficha epidemiológica donde se recogieron los siguientes datos:

- Agua: grifo, mineral o pozo.
- Lavado de manos: si/no.
- Lavado de verduras: si/no.
- Cepillado de uñas: si/no.
- Toalla de uso personal: si/no.
- Convivencia con animales domésticos de compañía (perro y gato).
- Heces (padre, madre e hijos).

A partir de la muestra estudiada desde el punto de vista epidemiológico y parasitológico ($n_1=396$) se calculó el tamaño de la muestra necesaria para investigar la respuesta inmunológica frente a *Giardia lamblia*. Para ello se realizó un experimento piloto con 20 casos ($N=20$) y se aplicó la fórmula reseñada anteriormente, resultando un total de 66 niños ($n_2=66$) que se eligieron mediante la tabla de números aleatorios.

4.2. Material y métodos.

Para la recogida de las heces nos hemos ajustado a las medidas propuestas por Carroll (24). Se distribuyeron simultáneamente tres botes de plástico con cucharilla, limpios, secos y etiquetados, indicando en ellos nombre y apellidos del niño, edad y escuela infantil a la que pertenece. En aquellos casos en los que los análisis no

podieron realizarse en las primeras 24 horas post-emisión, las muestras fueron almacenadas en refrigerador con líquido conservante (ácido acético, 1.6 ml; acetato sódico, 15 grs; 1 l agua destilada; pH=5) hasta su procesamiento.

Las heces se recogieron de manera habitual a partir de la defecación espontánea en días alternos durante 2-3 semanas, advirtiéndoles que durante el período de recogida no ingirieran fármacos o sustancias que puedan alterar la excreción de quistes (caolín, bismuto o antibióticos), habiéndose encuestado sobre el cumplimiento de esta exigencia como paso previo para ser incluido en el estudio.

El exámen parasitológico se efectuó mediante la técnica de concentración bifásica de Bailenger (11), basada en el empleo de dos fases no miscibles, una acuosa y otra oleosa lo que permite la orientación de los distintos componentes fecales en función del equilibrio hidrófilo-lipófilo, encontrándose los elementos parasitarios en la fase acuosa, debido a la fuerte hidrofília que presentan.

Posteriormente fueron observadas las muestras con un microscopio óptico marca Oxford Trade con objetivo x40 (Fig.6 y 7).

Fig.6 QUISTES DE GIARDIA LAMBLIA

Teñidos con MIF (x 40)

Fig.7 QUISTES DE GIARDIA LAMBLIA

Visión directa (x 100)

Se consideraron parasitados aquellos niños que presentaron quistes de Giardia lamblia al menos en una muestra.

El estudio de las heces de los familiares se realizó de la manera reseñada anteriormente.

La investigación serológica se llevó a cabo mediante la recogida de sangre entre 2-4 semanas después del estudio de las heces, teniendo en cuenta que la respuesta serológica no es inmediata a la parasitación (54). Los sueros fueron extraídos en tubo sin coagulante, centrifugados a 3000 rpm durante 15 minutos, decantados en tubos de Eppendorf y congelados hasta su procesamiento.

La serología se efectuó mediante un kit comercial para inmunofluorescencia indirecta (IFI), utilizando trofozoítos de Giardia lamblia como antígeno para la detección de anticuerpos antiGiardia lamblia en suero. Para su realización se siguieron los siguientes pasos:

1. Diluciones a 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 y 1/64.
2. Se tomó 10 microlitros de cada dilución que se colocaron en el pocillo del kit.
3. Cámara de humedad a 37°C durante 30 minutos.
4. Lavado con PBS dos veces durante 5 minutos.
5. Secado al aire.
6. Adición de conjugado de gammaglobulina anti-humana polivalente (IgA, IgM e IgG).
7. Cámara de humedad a 37 °C durante otros 30 minutos.
8. Lavado nuevamente con PBS dos veces durante 5 minutos.
9. Secado al aire.

10. Medio de montaje y posterior observación con microscopio de inmunofluorescencia Diaplan Leitz a x40.

Un control positivo y otro negativo se incluyeron en cada kit. Todos los portas fueron leídos por el mismo observador y a ciegas. Un título mayor o igual a 1/16 fue considerado positivo. Con este título el test tiene un 80% de sensibilidad y 93% de especificidad.

4.3. Tratamiento estadístico de los datos.

Para la descripción y análisis estadístico de los datos hemos utilizado:

1. Estadística básica de variables cuantitativas de persona y de resultados de laboratorio, calculando la media aritmética (M) con desviación típica (+/-DT) e intervalo de confianza del 95% (IC 95%) y rango (R).

2. Comparación de medias utilizando la t de Student cuando el tamaño de la muestra lo requiera.

3. Comparación de porcentajes.

4. Test de asociación de Ji cuadrado y test exacto de Fisher para las variables cualitativas.

5. Media geométrica con su desviación típica en el tratamiento estadístico de las diluciones de los sueros, ya que estas siguen una progresión geométrica.

6. Pruebas de validez 2x2 para calcular la sensibilidad, especificidad, proporción de falsos positivos y negativos, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) en función de la prevalencia

hallada en el estudio. Y por último calcularemos el cociente de probabilidades de una prueba positiva y negativa.

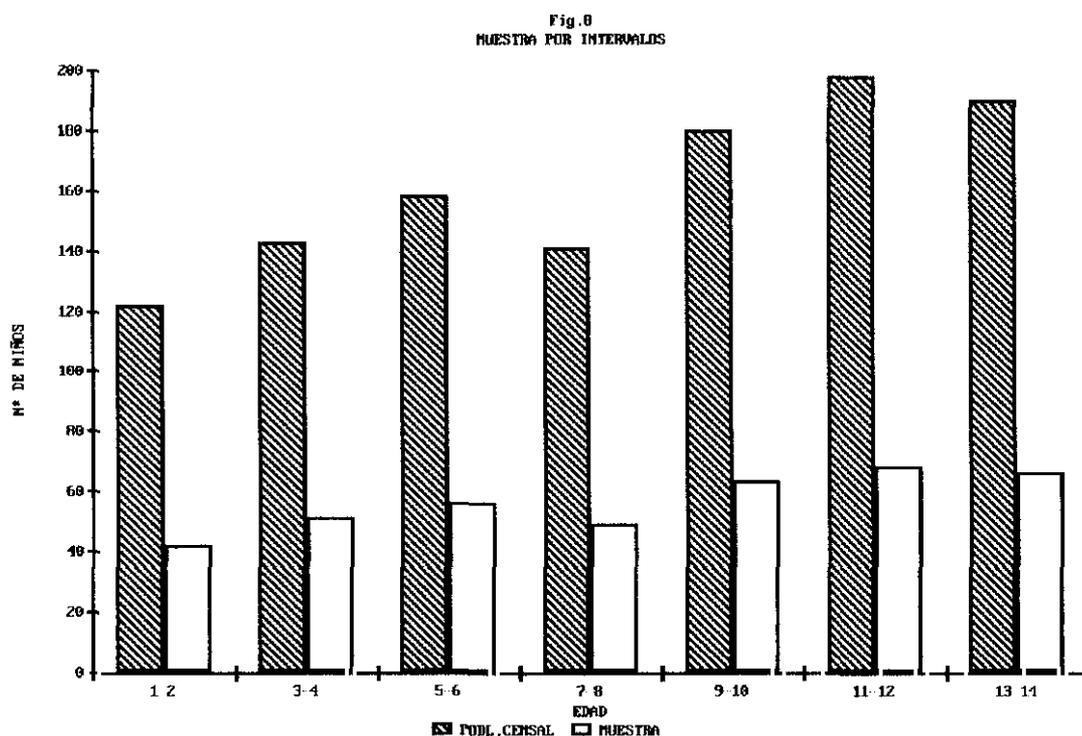
En todas las pruebas se aceptó una significación para una $p < 0.05$.

En todos los cálculos hemos utilizado un ordenador personal Olivetti M240 con el programa estadístico RSIGMA.

RESULTADOS

5.1. Estudio descriptivo de la muestra.

El resultado descriptivo de la muestra estratificada por intervalos de edad es el que se expresa en la Fig.8.



Se han estudiado un total de 396 niños de 1-14 años de edad, que representa el 34,98% de la población escolarizada y de guardería de aquel rango de edad. Del total de la muestra, 148 estaban parasitados por *Giardia lamblia* (Fig.9 y 10), lo que supone el 37,37% y 248 no estaban parasitados.

Se analizaron 1188 muestras de heces (tres por cada niño) de las que 367 presentaban quistes de *Giardia lamblia* lo que supone un 30,89%.

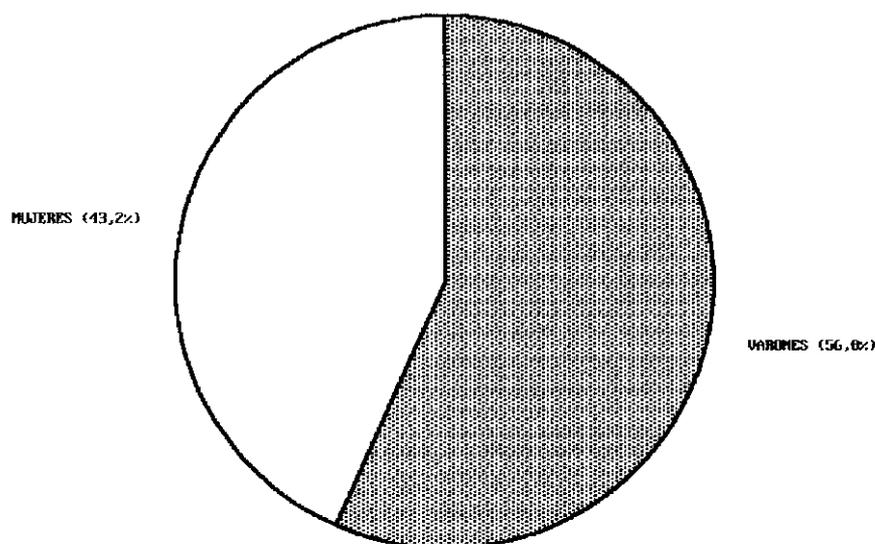
Fig.9 QUISTES DE GIARDIA LAMBLIA
MIF (x 100)

Fig.10 QUISTES DE GIARDIA LAMBLIA
Visión directa (x 100)

5.2. Edad y sexo.

De los 148 parasitados, 84 eran varones (56,75%) y 64 mujeres (43,24%) (Fig.11).

Fig.11
DISTRIBUCION DE PARASITADOS/SEXO



No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la parasitación por sexos.

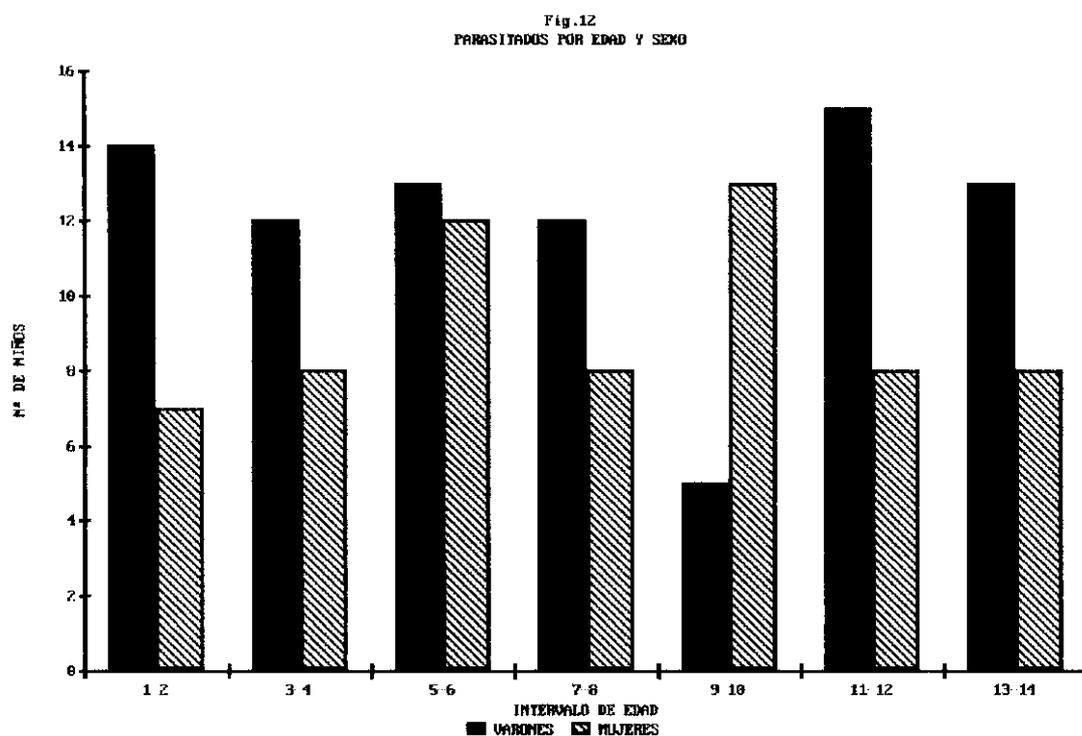
La edad media (EM) de los parasitados fue de 7,47+/-4,04 años y la de los no parasitados 8,42+/-3,89; diferencia que ha resultado significativa para una $p < 0,05$).

En la Tabla III se representa el porcentaje de parasitados por intervalos de edad, correspondiendo el mayor porcentaje al grupo de 1-2 años (50%), seguido del intervalo de 5-6 años (43,85%).

TABLA III

| INTERVALO EDAD | Nº TOTAL NIÑOS | Nº PARASITADOS | % PARASITADOS |
|----------------|----------------|----------------|---------------|
| 1-2 | 42 | 21 | 50 |
| 3-4 | 51 | 20 | 39,2 |
| 5-6 | 57 | 25 | 43,8 |
| 7-8 | 49 | 20 | 40,8 |
| 9-10 | 63 | 18 | 28,5 |
| 11-12 | 68 | 23 | 33,8 |
| 13-14 | 66 | 21 | 31,8 |

En la Fig.12 se muestra la distribución de niños parasitados por intervalos de edad y sexo, donde destaca la mayor proporción de varones en el intervalo de 11-12 años seguido por el de 1-2; por su parte las niñas presentan mayor parasitación en el intervalo de 9-10, seguido por el de 5-6.

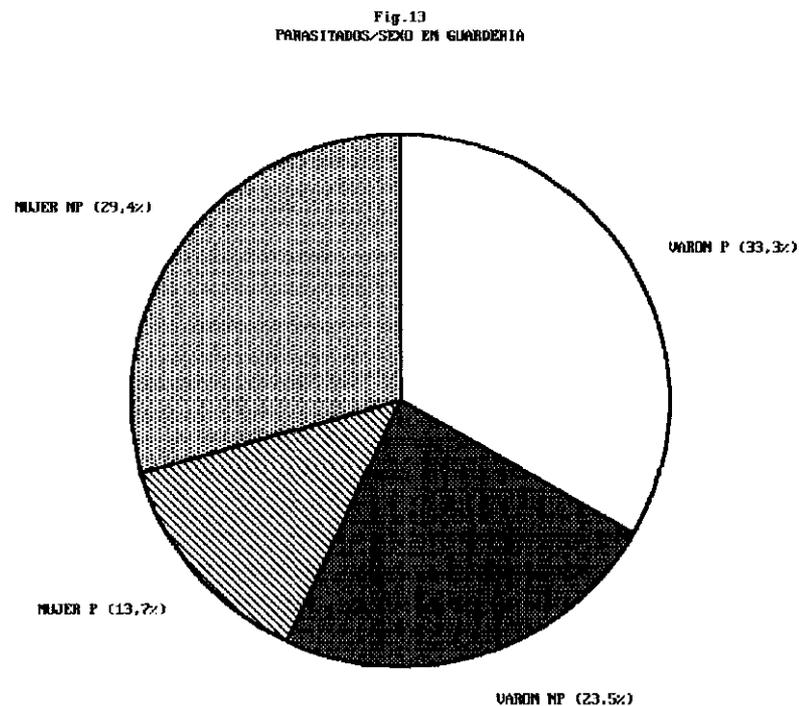


Sin embargo, no hubo diferencias entre la EM de los parasitados en función del sexo ni tampoco en los distintos intervalos de edad.

5.3. Escolarización.

5.3.1. Guardería.

De los 51 niños que acudían a la guardería, 24 estaban parasitados (47%). De éstos, 29 eran niños (17 parasitados; 70,83%) y 22 niñas (7 parasitadas; 29,16%). Hubo diferencias significativas en este nivel de atención social en cuanto a la parasitación por sexos ($p < 0,05$) (Fig.13).



P=parasitados

Significativo ($p < 0.05$)

NP=no parasitados

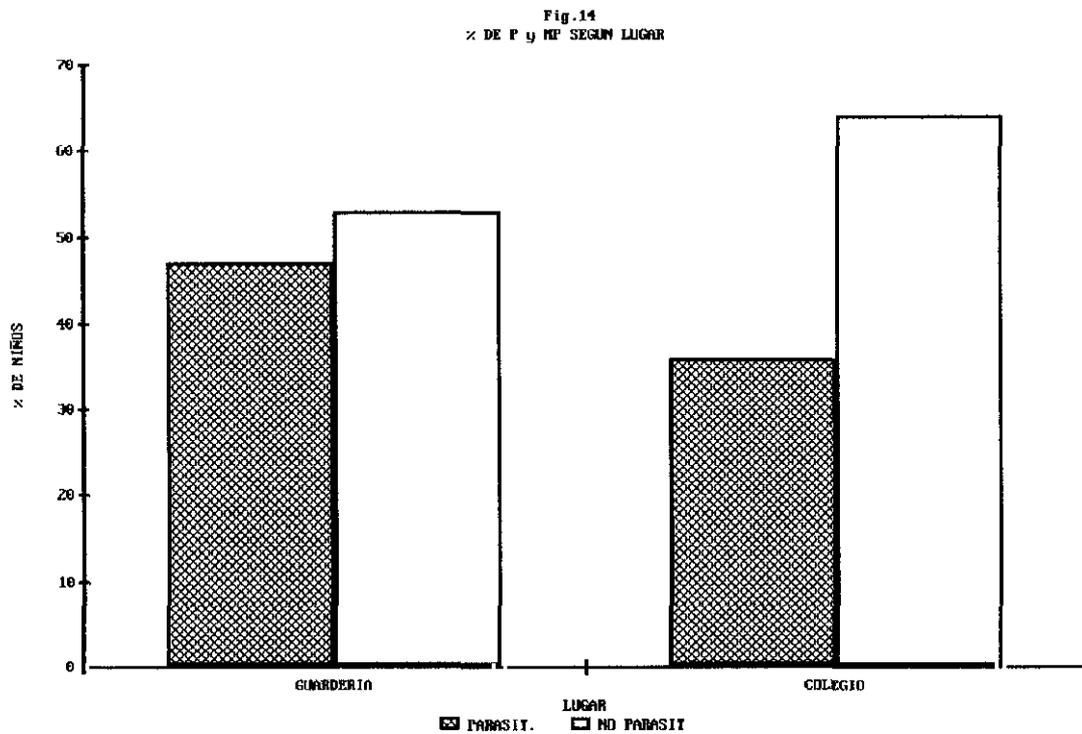
La EM de los parasitados fue de $1,75 \pm 0,67$ años. No hubo diferencias entre la EM de los sintomáticos y asintomáticos en este nivel de atención.

5.3.2. Colegio.

El grupo del colegio estaba constituido por 345 niños, de los cuales 124 estaban parasitados (35,94%). De estos, 174 eran varones, de los que 67 estaban parasitados (38,5%); 171 eran mujeres de las que 57 estaban parasitadas (33,33%). No se hallaron diferencias en función del sexo en estos escolares.

La EM de los parasitados fue 8,58 años. Se encontraron diferencias entre la EM de sintomáticos y asintomáticos ($p < 0,001$).

Sin embargo, no hubo diferencias en función del lugar de procedencia de escolarización de los niños (Fig.14).

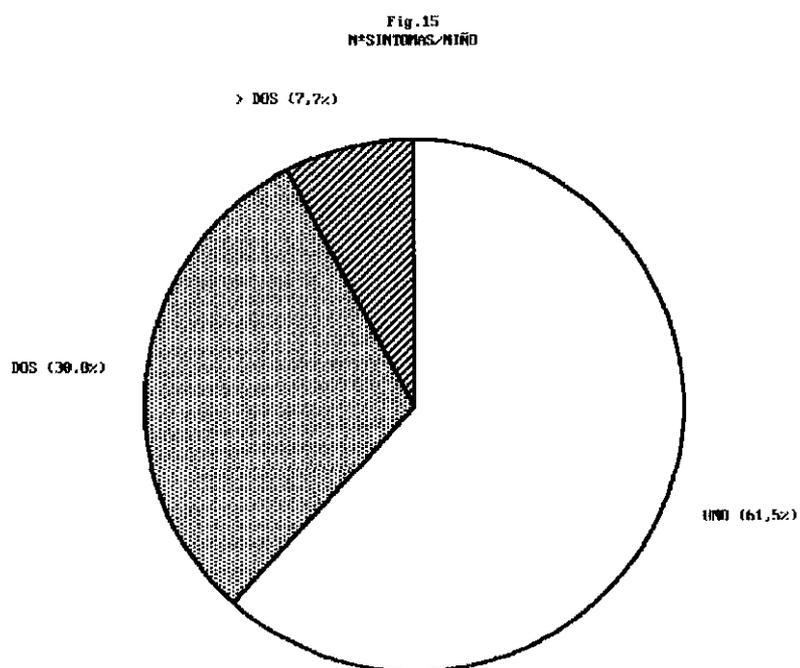


P=parasitados

NP=no parasitados

5.4. Síntomas.

De los 148 niños parasitados, 39 fueron sintomáticos (26,35%) sumando este grupo un total de 58 síntomas (1,48 síntomas/niño) y 109 fueron asintomáticos (73,64%). En la Fig.15 quedan representados el número de síntomas por niño.



En la Tabla IV se muestra los intervalos de edad en relación con los síntomas.

TABLA IV

| Interv.edad | S í n t o m a s | | | | |
|-------------|-----------------|---------|----------|---------|----------|
| | DAR | Diarrea | Estreñi. | Vómitos | Anorexia |
| 1-2 | 5 | 8 | 1 | 2 | 2 |
| 3-4 | 10 | 2 | 2 | 2 | 1 |
| 5-6 | 9 | - | 2 | 2 | - |
| 7-8 | 5 | - | - | - | - |
| 9-10 | 1 | - | - | - | - |
| 11-12 | 2 | - | - | - | - |
| 13-14 | 1 | - | - | - | - |

Se observa que el intervalo de 1-2 años seguido del intervalo de 3-4 años es donde se hallan mayor número de niños con síntomas.

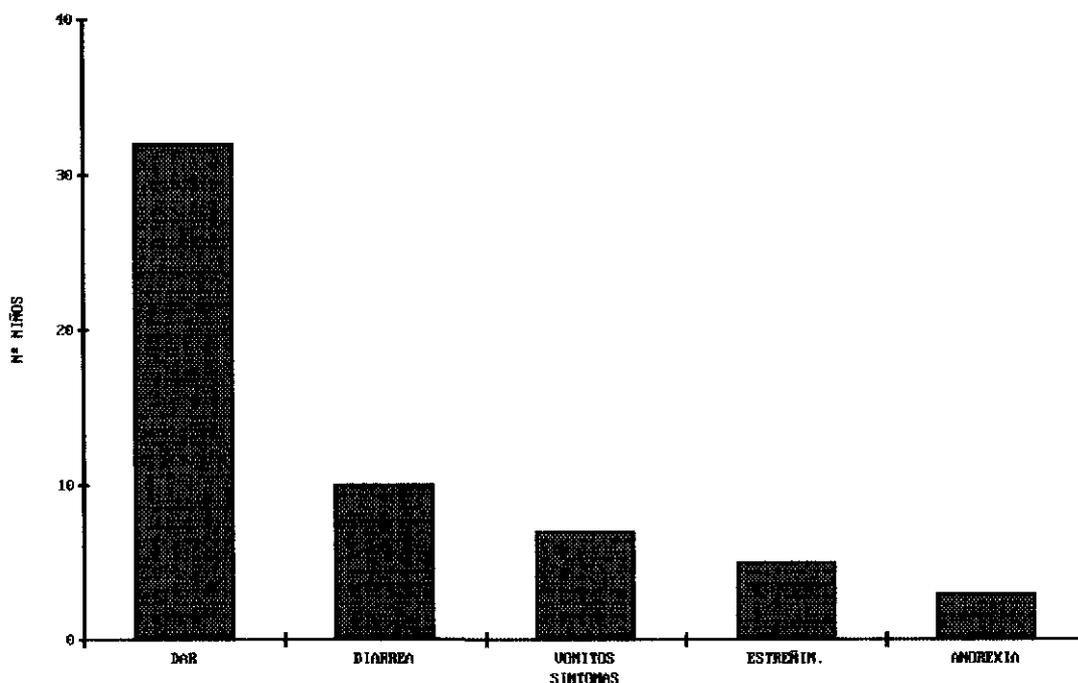
En la Tabla V se representa los síntomas en función del sexo, no habiéndose encontrado diferencias entre ambos.

TABLA V

| Síntomas | Varón | Mujer | Total |
|----------|-------|-------|-------|
| DAR | 18 | 15 | 33 |
| Diarrea | 5 | 5 | 10 |
| Estreñ. | 4 | 1 | 5 |
| Vómitos | 4 | 3 | 7 |
| Anorexia | 3 | - | 3 |

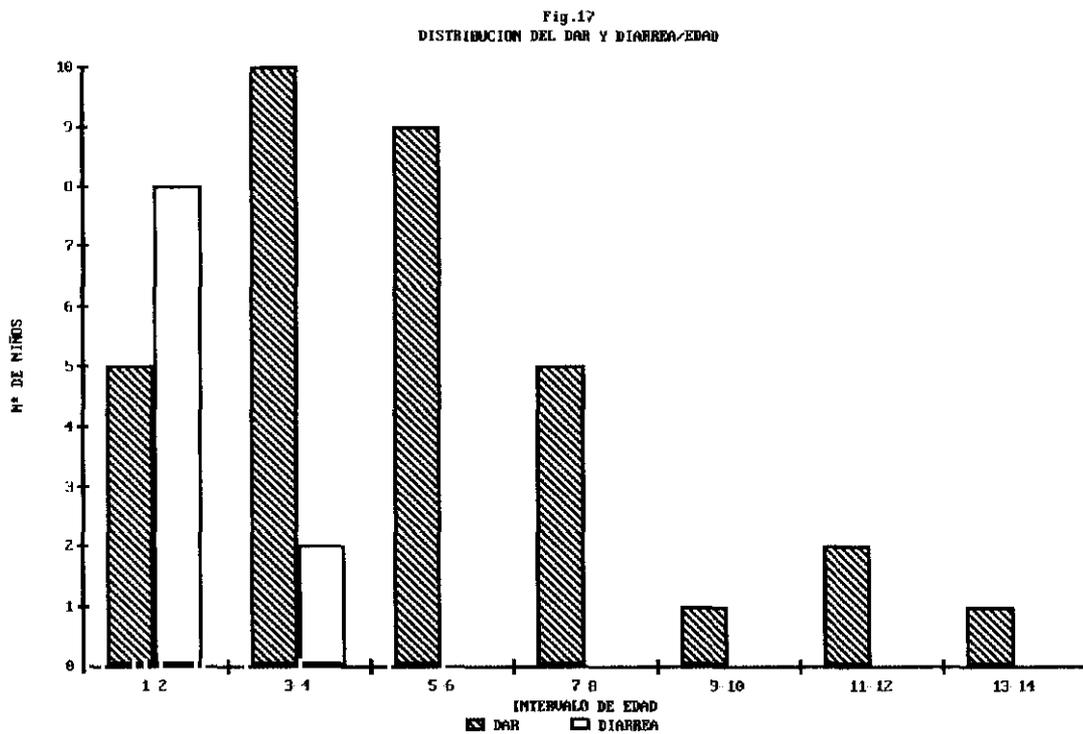
Los síntomas inespecíficos que más se encontraron fueron: dolor abdominal recurrente (84,61%), diarrea (26,31%), vómitos (18,42%), estreñimiento (13,15%) y anorexia (7,89%) (Fig.16).

Fig.16
FRECUENCIAS DE SÍNTOMAS



DAR=dolor abdominal recurrente

La EM de los sintomáticos fue de $4,82 \pm 3,21$ y la EM de los asintomáticos $8,43 \pm 3,89$, habiéndose encontrado diferencias significativas para $p < 0,001$. También se encontraron diferencias entre la EM de los que tenían dolor abdominal recurrente ($5,39 \pm 3,15$) y diarrea ($2 \pm 0,94$) ($p < 0,001$), tal como puede verse en el gráfico (Fig.17).

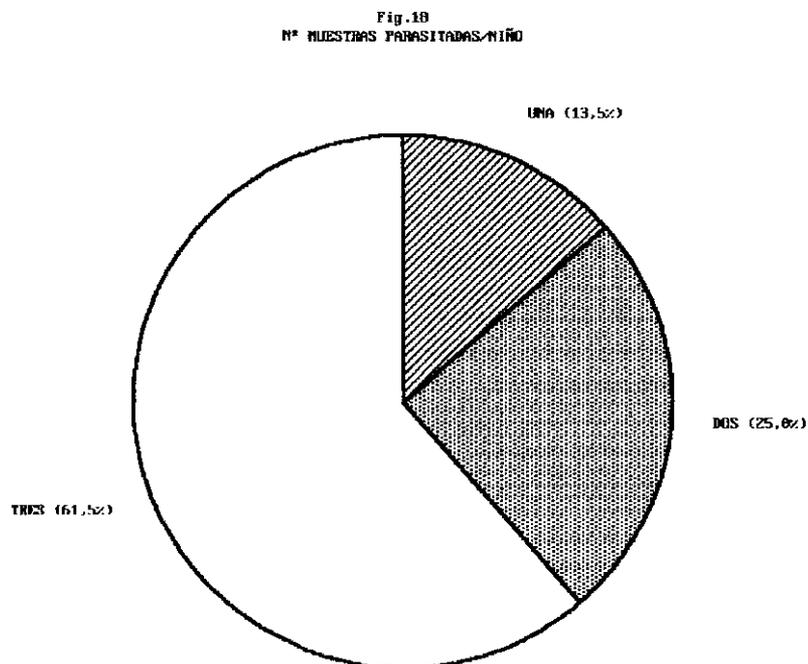


En cuanto al lugar de procedencia se observó que en la guardería, aún habiendo menor proporción de sintomáticos que en el colegio (12 niños) frente a 27 del colegio, la diferencia fue claramente significativa ($p < 0,01$).

5.5. Número de muestras parasitadas.

De los 148 niños parasitados, se detectaron quistes de *G.lamblia* en una sola muestra en un total de 20 (13,51%), en dos muestras en 37 (25%) y en tres muestras en 91 (61,48%).

Resultando un total de 367 muestras parasitadas (2,47 muestras por niño) (Fig.18), tal como se refirió en la descripción inicial a propósito del total de muestras examinadas.



No se encontraron diferencias significativas entre la media de muestras parasitadas y el lugar de asistencia, ni tampoco con el sexo. Sólo se encontró en la media de muestras parasitadas entre sintomáticos y asintomáticos ($p < 0,001$).

5.6. Estudio de familiares.

5.6.1. Familiares de niños parasitados

De los 148 niños parasitados han colaborado en la encuesta de hábitos y estudio de las heces 62 familias (42%). El número total de familiares estudiados ha sido de 155 (1,04 familiares/niño), estando todos ellos asintomáticos. Se analizaron tres muestras de heces de cada miembro de la familia (465 muestras).

De los 155 familiares estudiados han resultado parasitados 41 (26,45%) (Tabla VI).

TABLA VI
Parasitación en la unidad familiar de niños parasitados

| Parentesco | nº casos | nº parasitados | Porcentaje |
|------------|----------|----------------|------------|
| Padres | 62 | 16 | 25,8% |
| Madres | 62 | 15 | 24,1% |
| Hermanos | 31 | 10 | 32,2% |

5.6.2. Familiares de niños no parasitados

De los 247 niños no parasitados han colaborado en la encuesta de hábitos y estudio de las heces 60 familias (24,2%). El número total de familiares estudiados ha sido 150 (0,6 familiares/niño).

Se analizaron tres muestras de heces por persona (450 muestras). De los 150 familiares estudiados han resultado parasitados 20 (13,33%) (Tabla VII).

TABLA VII
Parasitación en la unidad familiar de niños no parasitados

| Parentesco | nº casos | nº parasitados | Porcentaje |
|------------|----------|----------------|------------|
| Padre | 60 | 8 | 13,3% |
| Madre | 60 | 7 | 11,6% |
| Hermano | 30 | 5 | 16,6% |

Se observó que los familiares de los niños parasitados están más parasitados que los familiares de los niños no parasitados (χ^2 cuadrado=7,39; $p=0.006$) ($p < 0.01$).

No se encontraron diferencias significativas entre los portadores familiares respecto al sexo ni entre la frecuencia de parasitación de los padres y hermanos.

5.6.3. Encuesta epidemiológica

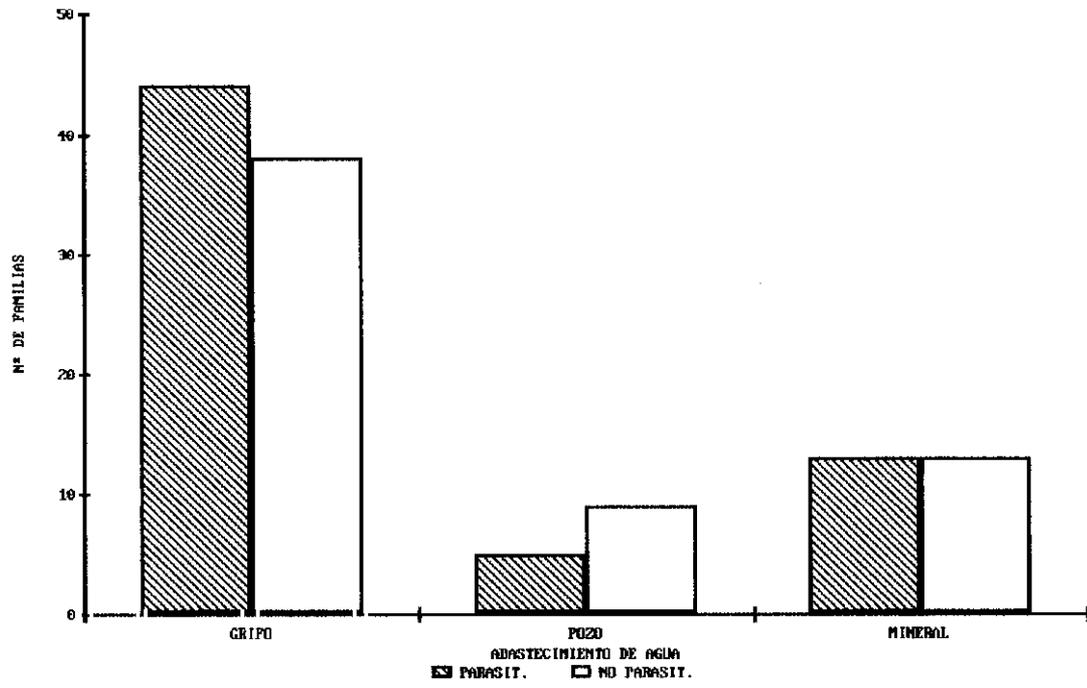
TABLA VIII

| <u>Hábito</u> | <u>Familias</u> | | <u>Prueba estadística</u> |
|------------------------|-----------------|----------|---------------------------|
| | niños P | niños NP | Ji cuadr/Fisher |
| Lavado manos | | | |
| *sí | 60 | 60 | ----- |
| *no | 2 | 0 | |
| Lavado verduras | | | |
| *sí | 61 | 58 | NS (p=0.4) |
| *no | 1 | 2 | |
| Cepillado uñas | | | |
| *sí | 11 | 6 | NS (p=0.3) |
| *no | 51 | 54 | |
| Animales | | | |
| *sí | 13 | 9 | NS (p=0.5) |
| *no | 49 | 51 | |
| Toalla personal | | | |
| *sí | 9 | 6 | NS (p=0.6) |
| *no | 53 | 54 | |

El análisis de la encuesta epidemiológica realizada a los familiares en relación a las variables comentadas previamente, no demuestra diferencias estadísticamente significativas entre los portadores familiares de Giardia lamblia de niños parasitados y no parasitados (Tabla VIII).

En relación con la fuente de abastecimiento de agua, tampoco se encontró diferencias significativas entre portadores familiares de niños parasitados y no parasitados (Fig.19).

Fig.19
ORIGEN DEL AGUA/FAMILIAS



5.7. Estudio inmunológico.

Se estudió la respuesta sérica en un grupo de 66 niños de 1-14 años de los cuales 39 estaban parasitados en heces por *Giardia lamblia*, lo que supone un 59,09% y en 27 no se observaron quistes en heces.

De los parasitados, 27 eran varones (64,10%) y 14 mujeres (35,89%).

Aparecieron anticuerpos circulantes contra quistes de *G. lamblia* a títulos iguales o superiores a 1/16 en un 82,5% de los parasitados (32 niños) frente a 29,62% (8 niños) en los que no pudo detectarse quistes en heces en ninguna de las tres muestras analizadas.

Sin embargo, hubo un 17,94% (7 niños) con quistes en heces que tuvieron títulos de 1/8, es decir respuesta sérica negativa. Y un 70,17% (19 niños) en los que no aparecieron quistes, el título fue $< 1/16$ y por lo tanto respuesta sérica también negativa (Fig.20).

Se encontró asociación entre respuesta sérica positiva y presencia de quistes en heces ($\chi^2 = 16,23; p < 0,001$).

No se encontró asociación en cuanto a la respuesta sérica entre sintomáticos y asintomáticos (Fig.21). Ni tampoco con la edad ni el sexo.

Fig.20
TÍTULOS DE Igs

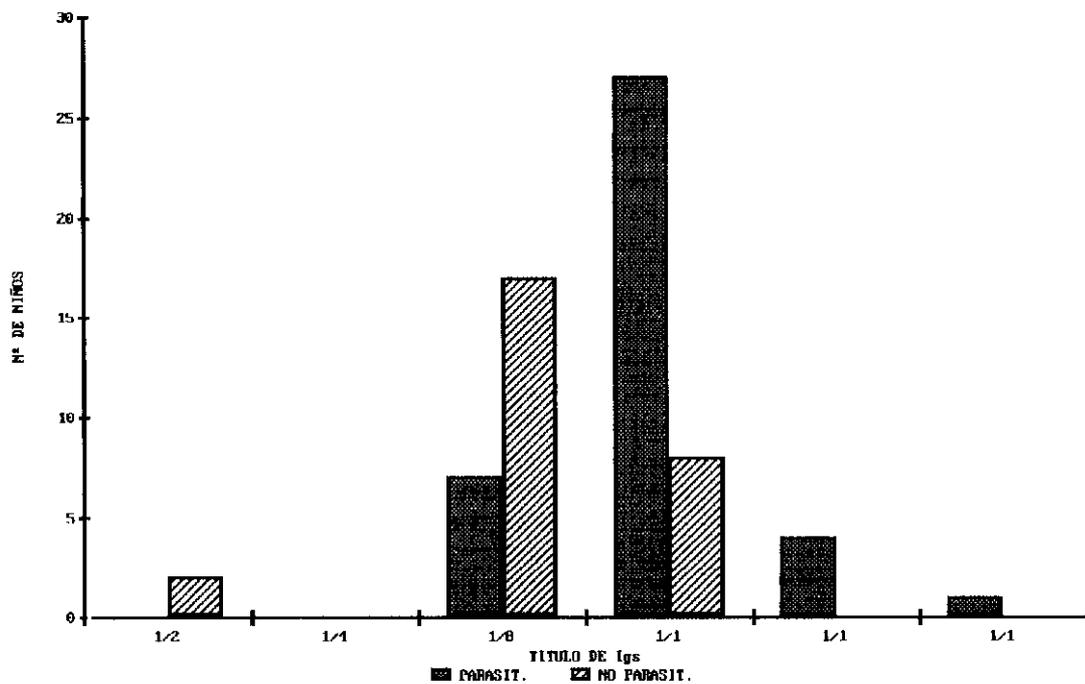
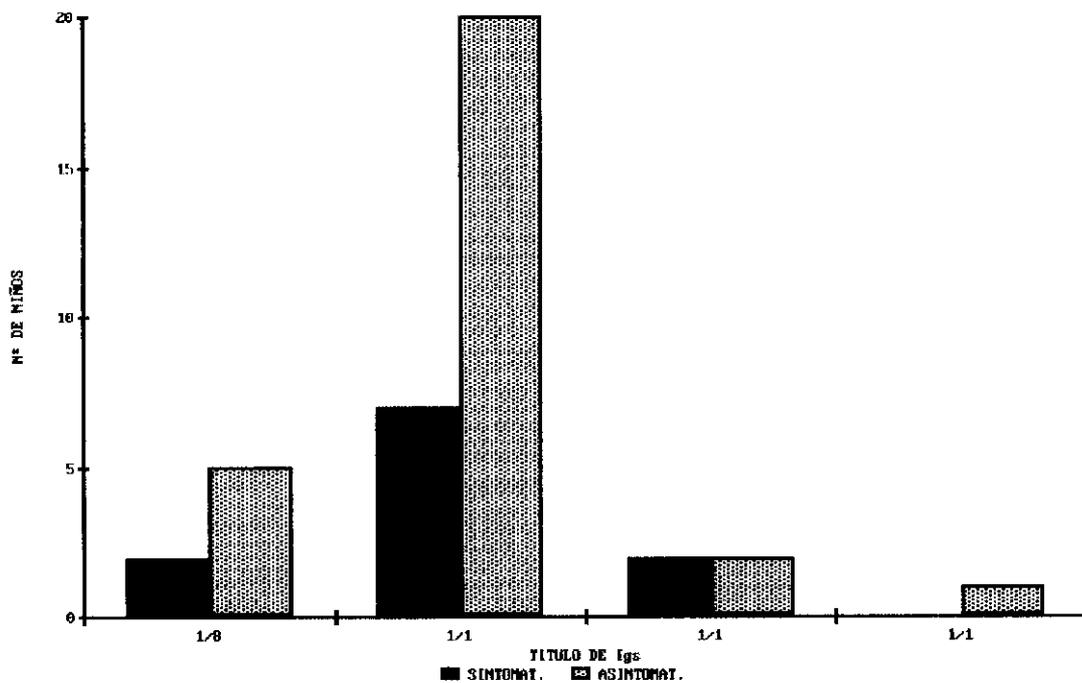


Fig.21
TÍTULOS DE Igs NIÑOS AS y S



AS=asintomáticos

S=sintomáticos

5.8. Evaluación de las pruebas diagnósticas.

A continuación se expresan los resultados de los índices obtenidos para las distintas pruebas diagnósticas, tomando como test de referencia el exámen parasitológico de heces (Tabla IX).

TABLA IX

| Resultado del test | No parasitados | Parasitados | Total |
|--------------------|----------------|-------------|-------|
| Positivo | 8 | 32 | 40 |
| Negativo | 19 | 7 | 26 |
| Total | 27 | 39 | 66 |

Sensibilidad=82,05%

Especificidad=70,37%

Probabilidad de falsos negativos=17,94

Probabilidad de falsos positivos=29,62

VPP=62,5%

VPN=88%

Prevalencia=37,37%

Cociente de probabilidad positivo=2,82

Cociente de probabilidad negativo=0,24

Los anticuerpos frente a *Giardia lamblia* tienen un valor diagnóstico, es decir la proporción de positivos con exámen parasitológico positivo, $32/39=82,05\%$ es superior a la proporción de positivos con exámen parasitológico negativo, $8/27=29,62\%$ con un valor de ji cuadrado de 16,23 ($p < 0.001$).

DISCUSSION

Prevalencia.

La prevalencia de parasitación por giardias en este estudio es alta (37,37%); dicho porcentaje difiere cuantitativamente de otros trabajos realizados por distintos autores en otras zonas de la península: Castellón (28), Galicia (10), Barcelona (167), Granada (44), Salamanca (69), Cádiz (65) y de países extranjeros, tanto desarrollados como subdesarrollados: New England (40), Vermont (16), Guatemala (57) y Arabia Saudí (19).

La alta frecuencia hallada en nuestro estudio podría atribuirse a varias causas:

a. Posible nivel socioeconómico, cultural y condiciones higiénico-sanitarias deficientes. Se sabe que esta parasitosis se asocia con hacinamiento, bajo status socioeconómico y pobres condiciones sanitarias (34).

b. Técnica de laboratorio utilizada. Los análisis coprológicos varían según la técnica de concentración empleada en el estudio de las muestras (84). Parece ser que estas técnicas son las más apropiadas para la visualización de protozoos en fase quística (24), y son las que aquí se han utilizado.

c. Debido a la naturaleza rural de la zona es posible que halla una alta frecuencia de contactos con fuentes de infección medio-ambientales, particularmente el agua.

De acuerdo con el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de Atlanta (CDC), se estima que el 90% de infecciones por Giardia, se adquieren por beber agua tratada pero no filtrada o por contacto con niños de pañales; el 10%

restante por beber agua no tratada, viajes internacionales o contacto sexual (homosexuales) (103).

Un estudio de población rural en el norte de New England destacó una asociación no reconocida entre pozos poco profundos y giardiasis endémica (40); en Vermont se observó también una alta tasa de giardiasis en personas que tenían pozos privados como fuente de agua y en poblaciones abastecidas con agua municipal no filtrada (16).

A pesar de lo dicho anteriormente, Ares Mazas y col. (10) en Galicia no encontraron diferencias significativas entre la frecuencia de parasitados por Giardia en ambos tipos de asentamientos, rural y urbano.

Nuestro medio tiene las condiciones apropiadas para la parasitación por vía hídrica e incluso alimentaria, ya que el tratamiento del agua de abastecimiento es solamente químico y no físico, y existe regado incontrolado de verduras y hortalizas con aguas residuales.

El estudio microbiológico de las aguas no se realizó por las dificultades técnicas y de infraestructura que conlleva.

Tampoco se realizó el análisis de este parásito en los alimentos. Parece que la detección es difícil o imposible, ya que no existen equivalentes de los sistemas de cultivo enriquecidos para bacterias que serían deseables para la recuperación de pequeño número de protozoos de los alimentos (26).

Otros muchos factores además de los mencionados pueden influir en la prevalencia.

Ya Hipócrates y otros médicos de la antigüedad describieron como la frecuencia de muchas enfermedades varía de acuerdo con la zona geográfica, estaciones del año, costumbres sociales, situación profesional y estado nutricional de los individuos (9).

Edad.

La edad de más alta prevalencia se sitúa entre 1-8 años, siendo en el intervalo de 1-2 dónde se observa un mayor número de casos parasitados (50%). Esto se explica porque estos niños, capaces de desplazarse no han adquirido aún los hábitos higiénicos de los niños más mayores, teniendo por ello mayor riesgo de infestación.

A partir de esta edad, la prevalencia, aunque alta va disminuyendo porque los hábitos higiénicos van cambiando con el desarrollo del niño y por la adquisición de cierta inmunidad tras la parasitación, que explicaría la menor aparición de la enfermedad en los niños mayores (109).

Diversos autores coinciden en señalar los primeros años de la vida como los de mayor prevalencia de giardiasis (30) (67) (149) (182).

Sexo.

Con respecto a la posible relación parasitación/sexo no hemos encontrado tal asociación. Este hecho puede ser reflejo de la no existencia de factores de predisposición dependientes del sexo, sino que ambos (niños y niñas) están

sometidos a similares condiciones higiénico-sanitarias y regímenes de vida.

Los datos aportados coinciden con los de otros autores (27) (69) (94) pero discrepamos con Clavel Parrilla (30) que encuentra que los varones están más parasitados; sin embargo, García Peñarrubia (66) halla resultados inversos.

Guardería.

La prevalencia de parasitación encontrada en la guardería ha sido del 47%. El origen de tan elevado porcentaje, podría estar en la transmisión directa persona-persona. Diversos autores han establecido su papel predominante en guarderías infantiles (18) (80) (109). Así como en el contagio indirecto a través de juguetes, suelo, muebles, manos de los cuidadores, contaminación ambiental o alimentaria (49).

En general la frecuencia de giardiasis en guarderías es muy alta (18) (25) (46) (144) (166) (185), alcanzando cifras superiores al 50% frente a un 2% de los que no acuden a guarderías (18). Además estos niños pueden ser el foco de diseminación secundaria de esta infección a cuidadores y familiares de los mismos y posteriormente a la población general (18) (46) (149).

En la guardería, los niños están más parasitados que las niñas; esto podría deberse a una motricidad más activa, casi hiperquinética en los niños comparados con las niñas, o que

al ser más traviesos, jueguen o se muevan más, y por ello tengan un mayor contacto con fómites. Esto les haría más accesibles a las vías de entrada de este parásito.

En la bibliografía revisada no se han encontrado resultados similares en población de las mismas características.

La media de edad fue de 1,75 +/- 0,67 años, no habiendo encontrado diferencias significativas entre sintomáticos y asintomáticos infectados por *Giardia lamblia* respecto a la edad. Aunque esto no tiene una explicación clara, pudiera deberse a que ambos acuden a la misma institución y por tanto están sometidos a similares condiciones medio-ambientales. Estos resultados son concordantes con los obtenidos por otros (155), pero discrepantes con los hallados por Horowicz (86).

Colegio.

La prevalencia encontrada en el colegio es alta (35,94%). Las causas de tan alto grado de parasitación en dicha población podría deberse a:

1. Transmisión por manos sucias, polvo y objetos contaminados que contribuyen al mantenimiento de elevadas tasas de endemia.

2. Falta de adquisición y desarrollo de hábitos positivos de salud.

3. Contactos con fuentes de agua contaminada (aguas de bebida, recreativas, etc).

Este porcentaje difiere del encontrado por diversos au-

tores (27) (28) (65) (74) (91) (183) (185).

No se observaron diferencias significativas respecto al sexo, esto sugiere que la convivencia promiscua en los escolares no impide distinciones en este sentido.

Sin embargo, hay autores que encuentran que los niños están más parasitados que las niñas (28) (59) (74).

En este estudio no se encontró asociación causal entre la parasitación y la asistencia a escuelas infantiles; esto quiere decir que la parasitación depende de la edad y no de la institución de la que proceden los niños.

Por otro lado, la mayor parte de los estudios consideran la edad infantil (7) y de forma muy importante la asistencia a escuelas infantiles como factores de riesgo especialmente implicados en la transmisión de este parásito (17) (18) (147).

Síntomas.

El síntoma que más se asoció a la infección por Giardia lamblia fue el dolor abdominal recurrente (DAR) (84,61%). Este síntoma es referido por distintos autores en proporción muy variable, desde 8% en la serie de Black (18) hasta 86% en la de Kavousi (107).

La diarrea aguda (DA) ocupa el segundo lugar (26,31%). El rango de frecuencias en distintos trabajos es amplio, desde 2,8% (31) hasta 58% (18). Sin embargo, son mayoría los autores que llegan a la conclusión de que la diarrea no es un signo importante de infestación parasitaria en los niños de edad preescolar (19) (83).

El porcentaje de pacientes con vómitos fue de 18,42%, oscilando desde 3,7% (139) hasta 23,3% (6).

En cuanto al estreñimiento (13,15%) variando desde 3,6% (59) hasta el 46,8% (193).

Respecto a la frecuencia de anorexia (7,89%); nuestro resultado es inferior al obtenido por los autores que analizan este síntoma (6) (23) (31) (59) (66) (107). En la tabla X se muestran las series más importantes en las que se evalúan los síntomas atribuidos a la parasitación por *Giardia lamblia*.

TABLA X

SINTOMAS REFERIDOS POR DIVERSOS AUTORES EN LA PARASITACION POR GIARDIA LAMBLIA

| AUTORES | NºCASOS | AÑO | DAR | DA | VOMITOS | ESTREÑIMIENTO | ANOREXIA |
|---------------------------|---------|------|-----|-----|---------|---------------|----------|
| DaSilva | 32 | 1964 | 60% | 44% | -- | 40% | -- |
| Bueno | 28 | 1966 | 14% | -- | -- | -- | 14% |
| Webster | 32 | 1958 | 84% | 40% | -- | 46% | -- |
| Andersson | 30 | 1972 | 66% | 30% | 23% | -- | 66% |
| Black | 12 | 1977 | 8% | 58% | 8% | -- | -- |
| Kavousi | 160 | 1979 | 86% | -- | 9% | 4% | 30% |
| López Brea | 100 | 1979 | 35% | 18% | -- | -- | -- |
| G ^a Peñarrubia | 42 | 1981 | 19% | 12% | -- | -- | 26% |
| Pérez Chóliz | 191 | 1982 | 32% | 4% | 3% | -- | -- |
| Clavel | 108 | 1982 | 29% | 2% | 13% | 3% | 26% |
| Pickering | 471 | 1984 | -- | 17% | -- | -- | -- |
| Cerezo | 111 | 1986 | 60% | 20% | 16% | -- | 20% |
| Fdez García | 56 | 1988 | 41% | 7% | 10% | 3% | 16% |
| G ^a Martos | 3020 | 1989 | 15% | -- | 7% | -- | -- |
| Jarabo G ^a | 396 | 1995 | 84% | 26% | 18% | 13% | 7% |

DAR:Dolor abdominal recurrente. DA:Diarrea aguda

A pesar de lo inespecífico de los síntomas, hemos podido asociarlos a la parasitación por la respuesta que los distintos casos mostraron al tratamiento antiprotozoario. Aunque no es posible descartar absolutamente que dichos medicamentos no hayan corregido alguna otra infección bacteriana (Shigella, Salmonella, etc) responsable de los mismos síntomas.

La edad media de los niños sintomáticos que acudían a la guardería es menor que la de los que iban al colegio, además en la guardería hubo más sintomáticos que en el colegio.

Parece ser que la frecuencia de síntomas es edad-dependiente y por lo tanto los niños más jóvenes, que además son los que acuden a la guardería, son los más sintomáticos; esto podría atribuirse a la distinta tolerancia al parásito en los niños más pequeños comparada con los mayores y adultos (34).

Casabona y col. (25) en un brote epidémico ocurrido en una guardería infantil encuentra que los mayores niveles de infestación se producen en los menores de 3 años, que son también más afectados por la enfermedad clínica. Por el contrario, estudios realizados en Houston (149), en Phoenix (12), South Carolina (166), Canadá (110) (200) e Israel (164) comentan que la excreción de quistes de Giardia antes de los 3 años es comunmente asintomática y parece ser bien tolerada.

Llama la atención el elevado número de asintomáticos (73,64%) que eliminan quistes por heces y cuya detección es fortuita.

Esto podría deberse a que al ser una zona posiblemente endémica, estén expuestos de manera recurrente o crónica al parásito. Se ha visto que en zonas endémicas, más de 2/3 partes son asintomáticos, mientras en brotes epidémicos esta situación se invierte (64).

Estudios en diversas poblaciones indican que las personas expuestas episódicamente al parásito tienen probablemente más síntomas (viajeros a áreas endémicas) (174), expatriados (173), personas expuestas a un brote de giardiasis transmitido por agua (89). En contraste, las personas con exposición recurrente o crónica al parásito son habitualmente asintomáticas tales como varones homosexuales (143), niños que acuden a guarderías (147) y personas que viven en países subdesarrollados (73).

Parece ser que estas personas pueden desarrollar una inmunidad protectora a toxinas o cepas patógenas que les permiten ser portadores crónicos sin síntomas (90).

En diferentes zonas de EE.UU, la tasa de portadores asintomáticos puede variar del 1-20% según la comunidad y grupo de edad analizado (134).

En nuestro país oscila desde el 7,3% hasta el 21% dependiendo del grupo de individuos estudiado (140). Según otros puede ser de hasta un 75% (51).

Arancón Viguera encuentra un porcentaje de parasitación de 15,7% en los menores de 7 años y de 14,1% en el grupo de 7-15 años (7); Cerezo 26,5% en niños menores de 14 años (29) y Fernández García de 26,8% en el mismo grupo de edad (59).

Esta variabilidad en la respuesta clínica a la infección por Giardia podría atribuirse a tres características de la relación huésped-parásito:

1. Factores locales intestinales que pueden afectar al desarrollo del organismo como las sales biliares (56), el moco intestinal (202) y posiblemente la presencia de otros organismos intestinales tales como la *Cándida albicans* (122).

2. Diferencias en la patogenicidad de las diversas cepas del parásito (130).

3. Mecanismos de respuesta inmune del huésped (8) (88).

Número de muestras parasitadas.

Se ha encontrado asociación muy significativa entre el número de muestras parasitadas en relación con los síntomas; dato no recogido como tal en ninguno de los trabajos bibliográficos revisados.

Esto no quiere decir que los sintomáticos excreten más quistes, sino que eliminan quistes de manera más continuada.

Los niños pueden excretar quistes de tres modos (156) : continuamente y en grandes cantidades, intermitentemente y de manera infrecuente y escasa.

Este resultado podría atribuirse a diferencias en las cepas del parásito, fisiología del huésped y/o parásito o estar íntimamente relacionado con algún síntoma en concreto por ejemplo con la diarrea. Aunque parece ser que la presencia y número de quistes en heces aparentemente no se relaciona con la consistencia de las mismas o frecuencia de las deposiciones .

El único trabajo que podría avalar el resultado hallado es el de Danciger (41) que encuentra que los altos excretadores, además de excretar más quistes, tienen mayor número de muestras parasitadas.

Es posible que en este trabajo ocurra lo mismo y esto explique la asociación encontrada.

Estudio de portadores familiares.

En nuestro medio el porcentaje de infestación es alto tanto en los familiares de niños parasitados (26,4%) como en los familiares de niños no parasitados (13,3%). Sin embargo, la muestra no tiene sesgo ya que los familiares de ambos presentan condiciones similares (edad, n° de miembros, estilo de vida, etc). Este resultado es similar al hallado por Fernández García (26,8%) (59) en una zona gaditana, Cerezo que halla una frecuencia familiar total de 20,8% (29) y Black (25%) (18) pero discrepa de lo aportado por Arancón Viguera (7,4%) (7).

Posiblemente el mecanismo de transmisión implicado en esta parasitosis sea la transmisión directa persona a persona, sin descartar otros posibles vehículos indirectos (agua, alimentos, fómites, etc) dado que los familiares de los niños no parasitados están también parasitados.

Los resultados de la encuesta coinciden con los observados en el estudio de Arancón Viguera (7) y discrepan con los de Cerezo en el lavado de verduras (29).

Ninguna de las variables incluídas en la encuesta epidemiológica influyen en la parasitación.

Estudio inmunológico.

Estudios previos han demostrado que la infección por Giardia lamblia estimula la producción de anticuerpos séricos (73) (98) (124) (127) (157) (169) (175) (189) (194) (195).

Aunque la serología no tiene todavía aplicación como herramienta diagnóstica por la dificultad en distinguir, en base al título de anticuerpos, entre infección presente o pasada y/o enfermedad activa de la simple colonización.

Los resultados de este estudio confirman lo dicho anteriormente, apareciendo anticuerpos circulantes contra los quistes de Giardia lamblia a títulos de 1/16 a 1/64 en un 82,5% de los niños parasitados entre 1 y 14 años. Este alto porcentaje podría explicarse por la elevada exposición a este parásito en esta zona al ser posiblemente un área endémica; frente a un 29,62% con respuesta sérica positiva y heces negativas.

Hay que recalcar que unas heces negativas no excluyen totalmente la parasitación (96) y no dicen nada de giardiasis pasada.

El hecho de que el diagnóstico parasitológico de giardiasis sea negativo y dé una respuesta sérica positiva podría atribuirse a varias causas:

1. Excreción intermitente de quistes, tanto durante la enfermedad como en la infección asintomática (41) (96).

2. Giardiasis críptica. Sujetos en los cuales los exámenes de heces por técnicas de concentración son reiteradamente negativos, se hace un aspirado duodenal y

aparecen trofozoítos de Giardia (41).

3. Disminución o excreción nula de quistes por inhibición parcial o falta de estímulo para el enquistamiento, aunque se engendren una gran cantidad de trofozoítos (41).

4. Reactividad cruzada con otros parásitos intestinales (Ascaris lumbricoides, Entamoeba histolytica, Tenia saginata) (189) (194).

5. Al ser una zona posiblemente endémica es más fácil el contacto con sujetos infectados.

Los anticuerpos anti-Giardia IgG pueden elevarse en individuos no infectados en áreas endémicas, debido a la exposición repetida a los antígenos de Giardia, sin producir infección sintomática (75).

6. Que hayan estado parasitados anteriormente y haya quedado la respuesta sérica. Los títulos de anticuerpos pueden permanecer elevados de meses a años tras la primera infección. Existen estudios en los cuales los anticuerpos séricos se encontraron entre 2,5 y 15 meses tras la infección (169) (189), e incluso por encima de los 18 meses (175).

7. Utilización de trofozoítos o quistes como antígeno.

Estudios realizados por distintos autores, unos utilizando como antígeno quistes (63) (187) (189) (201), y otros trofozoítos (88) (194) han indicado que los títulos anti-quistes son específicos de giardiasis mientras que los antígenos de trofozoíto dan frecuentemente falsos positivos. Sin embargo, esto no es enteramente cierto y parece haber discrepancias. Así Jokipii y col. (98) (127)

(157) utilizando quistes como antígeno encuentran anticuerpos anti-Giardia en varios controles (sin giardiasis). Parece ser que el estado del ciclo vital del parásito no explica esta discrepancia; posiblemente se deba a la variación antigénica de superficie.

8. El hecho de haber utilizado por nuestra parte un kit alemán podría haber influido, ya que aunque morfológicamente la Giardia es idéntica en todas las regiones, podría haber variación antigénica según la zona geográfica (54).

9. Tipo de alimentación recibida. La deficiencia en la dieta de proteínas y grasas produce una reducción significativa de quistes de Giardia en ratas (79). Experimentalmente se ha visto que la ausencia de vitaminas en la dieta no disminuye la parasitación intestinal, pero sí hay una reducción significativa en la eliminación de quistes en heces (95).

10. Las heces líquidas contienen solamente trofozoítos. Estas formas parasitarias son muy frágiles y se desintegran enseguida, no detectándose si las heces no se examinan inmediatamente después de ser emitidas (4).

Igualmente puede haber un diagnóstico parasitológico positivo con respuesta serológica negativa (<1/16). En este estudio encontramos un 17,9% de niños. Ljungström (112) aporta un 32% de sujetos con pobre o no detectable respuesta de anticuerpos en un brote de giardiasis transmitido por el agua y en un área no endémica.

Esto podría atribuirse a:

1. Baja dosis infectiva.
2. Rápida recuperación sin tratamiento.

3.Tratamiento temprano.Parece ser que los títulos decrecen tras sucesivos tratamientos (98).

4.Corto intervalo de tiempo entre la infección y la recogida del suero.En este estudio,esto es difícil de valorar al ser una zona posiblemente endémica y estar reiteradamente expuestos.

En áreas no endémicas el diagnóstico serológico es más seguro si las muestras de sangre son extraídas tres semanas después de la infección (112).

5.Déficit inmunitario.Los sujetos con déficit inmunitario tienen una respuesta sérica pobre o ausente,a pesar de estar parasitados como sucede en aquellos que tienen hipogammaglobulinemia u otros trastornos inmunes (22) (82).Esto sugiere que los factores inmunológicos son importantes en la defensa del huésped contra estos parásitos.

En este trabajo la población estudiada es aparentemente sana.Hay autores que dicen que la giardiasis en individuos sanos no está relacionada etiológicamente con déficit de inmunoglobulinas ignoradas;factores tales como la patogenicidad o la intensidad de exposición al protozoo determinan la ocurrencia de giardiasis en la población sana (100).

No hemos encontrado asociación entre edad y títulos en los niños estudiados,ni tampoco con el sexo.Sin embargo, Rojas Lázara (162) encuentra como la edad de 1-5 años se asocia con un incremento del título de anticuerpos detectado por IFI.

Jokipii tampoco encuentra dicha asociación aunque sí la encuentra entre sexo y títulos en adultos sanos pero no en niños (98).

Tampoco hemos encontrado relación entre parasitados (sintomáticos y asintomáticos) y títulos, aunque la mayoría de estudios sí la encuentran. Así Ridley (157) halla una estrecha correlación entre la presencia de malabsorción y anticuerpos IgG parásito-específicos, los cuales estaban ausentes en sujetos infectados asintomáticos.

Otros autores usando diferentes antígenos y muestras de detección de anticuerpos han corroborado estas observaciones (97) (175) (188) (195).

Evaluación de pruebas diagnósticas.

Los resultados obtenidos demuestran una buena sensibilidad (82,05%) con un VPN también bueno (88%) y un cociente de probabilidades positivo y negativo adecuado. Sin embargo, el VPP (62,5%) es inferior.

En nuestro caso aunque la prevalencia es alta, el VPN será más útil para descartar la enfermedad de lo que es el VPP para confirmarla. Por lo tanto la IFI en este estudio se muestra como un test poco adecuado para el diagnóstico de esta parasitosis.

El cociente de probabilidades de una prueba positiva indica que en los niños analizados en nuestra serie la presencia de anticuerpos séricos positivos fue 2,82 veces más frecuente en los pacientes en los que se confirmó la parasitación que entre los que se descartó.

El cociente de probabilidades para la prueba negativa, 0,24, significa que una prueba negativa se encuentra 4,1 veces más frecuentemente entre los niños que no tuvieron giardiasis que entre aquellos que sí la padecían.

En la tabla XI se comparan nuestros resultados con los obtenidos por diversos autores.

TABLA XI
IFI EN EL DIAGNOSTICO DE LA GIARDIASIS

| AUTOR | AÑO | ANTIGENO | S | E | VPP/VPN | PUNTO DE CORTE |
|------------|------|-------------|-------|-------|-----------|----------------|
| Ridley | 1976 | quistes | 84 | nc | nc | nc |
| Visvesvara | 1980 | trofozoítos | 93,9 | nc | nc | > ó = 1/16 |
| Wittner | 1983 | trofozoítos | 92,5 | 79,5 | nc | > ó = 1/8 |
| Winiacka | 1984 | trofozoítos | 66 | nc | nc | > ó = 1/32 |
| Jokiipi | 1988 | quistes | 85,6 | nc | nc | nc |
| Ljungtröm | 1992 | trofozoítos | 68 | 89 | nc | > ó = 1/10 |
| Escribano | 1992 | trofozoítos | 88,6 | 84,9 | 30,5/99,2 | = 1/8 |
| Jarabo | 1995 | trofozoítos | 82,05 | 70,37 | 62,5/88 | > ó = 1/16 |

S=sensibilidad. E=especificidad. VPP=valor predictivo positivo. VPN=valor predictivo negativo. nc=nc consta.

Las diferencias encontradas en nuestro trabajo con respecto a otros autores pueden estar en relación con (98) (194) (195):

1.El diseño del estudio:influencia de la edad, sexo, etc,variables que no siempre pueden ser controladas (98).

2.Diferencias en los medios técnicos:errores de medida de las prueba diagnóstica empleada e interpretación de los resultados.

3.Efecto de la prevalencia sobre los índices diagnósticos (52),dato que no sabemos si se ha tenido en cuenta en todos los trabajos citados.

4.Utilización de trofozoítos o quistes como antígeno (98).

5.Distinto punto de corte según el autor (189) (194) (195).

Técnicas diagnósticas.

El exámen de heces mediante microscopía óptica constituye la prueba diagnóstica más simple, común y barata en el diagnóstico de laboratorio, sin que la no identificación del parásito en la misma excluya de manera absoluta la existencia de infestación.

La clave para lograr resultados óptimos es:

1.Obtención precisa de las muestras de heces, siendo importante que los pacientes no ingieran antibióticos o sustancias que contengan bismuto, caolín, aceite mineral o bario, ya que interfieren en la detección y/o identificación del parásito (24).

No se deben recoger las muestras de heces hasta pasadas 48-72 horas después de la ingesta de estas sustancias, ó 7 días después de haber realizado estudios radiológicos con contraste baritado.

2.Las heces líquidas pueden contener trofozoítos pero al ser muy lábiles, para encontrarlos deben examinarse en el plazo de 1-2 horas después de su expulsión (4).

3. Las heces formadas para investigar quistes pueden conservarse en refrigerador incluso durante 24 horas; si no pueden ser estudiadas en este plazo de tiempo deben colocarse en una sustancia conservante adecuada (formol 10%, alcohol polivinílico, etc), para su estudio posterior (24). Esto permite al paciente recoger varias muestras y entregarlas de una sola vez.

4. Se puede llegar al diagnóstico en el 50-76% de los casos con el análisis de una sola muestra, en el 90% con dos muestras y en el 97% con tres muestras de heces recogidas en días alternos durante 7-10 días, debido a la expulsión intermitente y variable de los quistes (24) (34) (197). A veces es necesario el estudio de seis muestras recogidas de manera intermitente durante varias semanas (24).

5. Experiencia del laboratorio.

6. El uso de laxantes o purgantes no aumenta la sensibilidad diagnóstica (34).

7. El período de latencia o intervalo que existe desde la ingestión de quistes hasta el comienzo de la excreción es de 9 días (156). Por esto es posible que un examen de heces durante la primera semana de una giardiasis sintomática sea negativo.

8. Las muestras fecales pueden examinarse directamente o bien después de prepararlas con suero fisiológico o solución yodada de lugol (4). No obstante, para aumentar la sensibilidad se puede recurrir a técnicas de concentración como la de Bailenger (11), Teleman-Rivas (68) y Ritchie (159). Portús y Prats (152) consiguieron mejores resultados con el método de Saperó y Lawless (MIFD) (100%) que con el

de concentración difásica de Blagg (MIFC) (60%). También se pueden utilizar tinciones especiales como el Negro de clorazol, tricrómico (171) y la hematoxilina férrica (85).

En los últimos años se han desarrollado diversas técnicas (ELISA, inmunolectroforesis, inmunofluorescencia) para detectar antígenos de Giardia lamblia en heces y líquido duodenal (34) (78) (130) (145) (158) y anticuerpos séricos anti-Giardia (169) (187) (189) (195).

La detección de anticuerpos séricos no es un método útil para llevar a cabo un diagnóstico rápido de la enfermedad por la tardanza en producirse la respuesta sistémica frente a la infestación por Giardia lamblia (período de latencia de 2-3 semanas) (54) "versus" promedio de 9 días que tardan en aparecer los quistes en heces (171). Otro de los inconvenientes que presentan dichos métodos es que no distinguen entre infección activa o curada (54) y tienen la dificultad de encontrar verdaderos controles y sujetos con giardiasis primaria en áreas endémicas (98).

No se ha generalizado su uso por diferencias en la standarización y cuantificación objetiva por los laboratorios (123) (175).

Así mismo, presentan una serie de limitaciones (39) (157) (187):

1. Contaminación de los quistes o trofozoítos utilizados como antígenos.

2. La interpretación de los resultados debe hacerse "a ciegas".

3. Que la giardiasis no haya sido razonablemente excluida en todos los controles.

4. La especificidad de los supuestos anticuerpos anti-Giardia debe ser previamente investigada.

5. La sensibilidad y especificidad debería ser del 100%.

6. Elevado costo.

Actualmente se utilizan para la realización de estudios epidemiológicos, patogénicos y como ayuda para el clínico cuando el resto de las pruebas diagnósticas han sido negativas (4) (145) así como para detectar tasas de seropositividad en la población general sana por diferentes técnicas inmunológicas.

Smith y col. (169) usando ELISA encuentran anticuerpos anti-Giardia lamblia en 14% de controles sanos en Washington. Miotti y col. (124) hallan tasas de 24% y 77% en mujeres que daban el pecho en Texas y Méjico, respectivamente. Gilman y col. (73) por IFI usando como corte títulos de anticuerpos iguales o mayores a 1/32 dan cifras comprendidas entre 16%-45% en población de diferentes grupos de edad en Bangladesh. Sullivan (175) también con IFI y títulos de 1/8 ó 1/32 como positivo observa una prevalencia de anticuerpos de 30% ó 3%, respectivamente en la población control.

Según el trabajo de Wittner (195) el ELISA resultó ser menos específica que la IFI, pero igualmente sensible, resultados inversos a los encontrados por Smith (169). Para el diagnóstico de giardiasis sintomática se utiliza la IFI, mientras en pacientes asintomáticos el diagnóstico serológico no puede interpretarse sin peligro ya que estos

pacientes pueden tener títulos de anticuerpos no específicos, debido a la infección por otros parásitos intestinales (195).

CONCLUSIONES

1.La prevalencia de parasitación por Giardia lamblia en los niños del medio rural explorado ha sido de 37,37% , lo cual se aproxima a la descrita en países en vías desarrollo.

2.El mayor número de niños parasitados se ha encontrado en el intervalo de edad de 1-2 años, presentándose una frecuencia alta hasta la edad de 8 años a partir de la cual desciende. Esto coincide con lo hallado por otros autores en nuestro país.

3.No se encontraron diferencias significativas en relación con la parasitación según sexo, tal como era de esperar.

4.No ha existido asociación causal entre el riesgo de parasitación y el lugar de escolarización en ninguno de los intervalos de edad, a diferencia de lo reseñado por otros autores.

5.En general, la proporción de parasitados asintomáticos ha superado notablemente a la de sintomáticos, los cuales han sido más frecuentes entre los niños de menor edad.

6.En cuanto a la proporción de síntomas relacionados con la parasitación, el 61,5% de los niños presentaron un sólo síntoma, 30,8% dos síntomas y únicamente un 7,7% más de dos.

7.El síntoma que más se asoció a la parasitación por Giardia lamblia ha sido el dolor abdominal recurrente (84,61%), lo que está de acuerdo con lo hallado por otros autores.

8.La presencia de síntomas se ha asociado significativamente con los casos que presentaron mayor número de muestras parasitadas.

9.El porcentaje de parasitación en los familiares de niños parasitados ha sido significativamente superior al de los familiares de los niños no parasitados, lo cual se asemeja a lo hallado en otros medios.

10.No se ha encontrado asociación significativa entre la parasitación y los hábitos sanitarios observados en los niños y familiares, ni con el agua de consumo. Lo que orientaría hacia una posible transmisión persona a persona.

11.Se ha detectado respuesta de anticuerpos séricos frente a Giardia lamblia en un 82,5% de los niños parasitados.

12.El exámen de heces mediante microscopía óptica nos parece la prueba diagnóstica más sencilla e inmediata, siendo de elección en estudios de la comunidad, sin embargo observamos que la IFI resulta un método poco eficaz para el diagnóstico de la giardiasis en nuestro estudio.

BIBLIOGRAFIA

1. Adam, RD: The biology of giardia. Microbiological. Rew. 1991; 55:706-732.
2. Aggarwal, A; Nash, TE: Antigenic variation of Giardia lamblia in vivo. Infec. Immun. 1988; 56:1420-1423.
3. Akin, EW; Jakubowski, W: Drinking water transmission of giardiasis in the United States. Water. Sci. Technol. 1986; 18: 219-226.
4. Alvarez Coca, J; Elorza, MD; López Herce, J; Martínez Debora, MJ; Polanco, I: giardiasis en la infancia II. Diagnóstico y tratamiento. Pediátrika. 1984; 4:25-36.
5. Ampofo, E; Fox, EG; Shaw, CP: Giardia and giardiasis in New Zealand. Environmental Health Unit. Dep. Health, Wellington. 1991.
6. Andersson, T; Forsell, J; Sterner, G: Outbreak of giardiasis: Effect of a new antitrypanosomatid drug, tinidazol. Br. Med. J. 1972; 2:449-451.
7. Arancón Viguera, A; Segura Torres, JC; Galán Labaca, I; Trapero Carrascosa, JL; Maqueda Blasco, J: Estudio de portadores familiares en 132 casos parasitados por Giardia lamblia. Aten. Prim. 1990; 7:18-20.
8. Areekul, S; Viravan, C: Prevalence of Giardia lamblia and its effects on hematological profile in asymptomatic school children. Southeast Asiam. J. Trop. Med. Pub. Health. 1986; 17: 96-100.
9. Ares Mazas, ME; Sela Pérez, MC: Importancia de las parasitosis intestinales del hombre desde el punto de vista de la Salud Pública. Rev. San. Hig. Pub. 1988; 62:1619-1633.
10. Ares Mazas, ME; Sela Pérez, MC; Fandiño Salorio, ML; Arias Fernández, MC: Enteroparasitismos en la población infantil gallega. Rev. Iber. Parasitol. 1987; 47:247-252.
11. Bailenger, J: Coprologie parasitaire et fonctionnelle. 3^e edic. Imprimerie. E. Drouillard. Bordeaux. 1973:90.
12. Bartlett, AV; Moore, M; Gary, GW et al: Diarrheal illness among infants and toddlers in day care centers. I. Epidemiology and Pathogens. J. Pediatr. 1985a; 107: 495-502.
13. Batista Díaz, N; López de Lama, MF; Muñoz Hernanz, S; Fernández Vera, JR; Merino García, M; Duque Hernández, J: Prevalencia de enteroparásitos en guarderías urbanas. Rev. San. Hig. Pub. 1992; 66:291-298.
14. Bending, DW: Diagnosis of giardiasis in infants and children by endoscopy brush cytology. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 1989; 8:204-206.
15. Bilo, HS; Bilo-Groen, CE: Worm, Giardia and Amoebic infestations on Praslin, Seychelles. Trop. Geogr. Med. 1983; 35: 179-180.

16. Birkhead, G; Wogt, RL: Epidemiology surveillance for endemic Giardia lamblia infection in Vermont. Am. J. Epidemiol. 1989; 129: 762-768.
17. Black, RE; Dykes, AC; Anderson, KE et al: Handwashing to prevent diarrhea in day care centers. Am. J. Epidemiol. 1981; 133: 445-451.
18. Black, RE; Dykes, AC; Synclair, SP; Wells, JG: Giardiasis in day care centers: Evidence of person-to person transmission. Pediatrics. 1977; 60: 486-491.
19. Bolbol, AS; Mostafa, SD; Al-Sekait, M; Al-Nasser, AA: Pattern of intestinal parasitic infection in preschool children in Riyadh, Saudi Arabia. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. 1989; 33: 253-259.
20. Boreham, PFL: Transmission of Giardia by foot and water. Food. Tech. Austr. 1987; 39: 61-63.
21. Briaud, M; Morichau-Beauchant; Matuchansky, C; Touchard, G; Babin, P: Intestinal immune response in giardiasis. Lancet. 1981; 2: 358.
22. Brown, WR; Butterfield, D; Savage, D; Tada, T: Clinical, microbiological and immunological studies in patients with immunoglobulin deficiencies and gastrointestinal disorders. Gut. 1972; 13: 441-449.
23. Bueno, M; Hermida, F; Conchillo, F; García Merlo, F; Tormo, J: Lamblisis intestinal en la infancia. Rev. Esp. Ped. 1966; 22: 1-17.
24. Carroll, MJ: Métodos usuales para la búsqueda de parásitos en heces y sangre. Pediatr. Clin. North. Am. (ed. española). 1985; 4: 1081-1087.
25. Casabona, J; Villalbí, JR; Garrido, P: Giardia lamblia en guarderías infantiles. An. Esp. Pediatr 1985; 23: 569-572.
26. Casemore, DP: Infección entérica transmitida por alimentos. Giardiasis. Lancet (ed. esp). 1991; 18: 292.
27. Castaño Pascual, A; Astasio-Arbiza, P; Vos Arenillas, A; Domínguez Carmona, M: Parasitismos intestinales en niños de una población madrileña. Rev. Iber. Parasitol. 1988; 48: 255-256.
28. Catalán, J; Ariza, C; De Rojas, MJ; Ubeda, JM; Guevara, DC: Epidemiología del parasitismo intestinal infantil en la provincia de Castellón. Rev. Esp. Microbiol. Clín. 1992; 7: 265-270.
29. Cerezo, JM; García-Muñoz, MT; Franganillo, A; Espinosa, J; Bustamante, JL; González-Antuña, M: Estudio de 108 familias de niños parasitados por Giardia lamblia. Aten. Prim. 1986; 3: 133-135.

30. Clavel Parrilla, A; Castillo García, FJ; Marcos Aragües, G; Rubio Calvo, MC; Gómez-Lus, R: Giardiasis: evaluación del número de muestras para su diagnóstico. *Inmunologika*. 1981; 5: 39-46.
31. Clavel, A; Pérez Choliz, V; Castillo García, FJ; Marcos, G; Calvo, MA; Biendicho, JR: Valoración de la clínica de la giardiasis y su modificación tras la curación parasitológica. *Rev. Esp. Pediatr.* 1982; 6: 413-418.
32. Cortina Greus, P; Sabater Pons, A: Salud y medio urbano y rural. En: *Medicina Preventiva y Salud Pública*. 8ª edición, 204-213. Salvat Editores, SA. Barcelona. 1988.
33. Craft, JC: Lamblias y lambliasis en la infancia. *MTA-Pedriatría*. 1983; 4: 347-386.
34. Craft, JC: Giardia and giardiasis in childhood. *Ped. Inf. Dis.* 1982; 1: 196-213.
35. Craun, GF: Waterborne outbreaks of giardiasis: Current status. In: Erlandsen, EL; Meyer, EA (eds). *Giardia and giardiasis*. New York. Plenum Press. 1984: 243-261.
36. Craun, GF: Surface water supplies and health. *J. Am. Water. Work. Assoc.* 1989; 80: 40-52.
37. Craun, GF: Water-borne giardiasis. In: Meyer, EA. (ed) *Giardiasis*. Elsevier Science Publisher. BV. Amsterdam. 1990: 267-293.
38. Crosson, FJ; Black, SB; Trumpp, CE et al: Infections in day care centers. *Curr. Probl. Pediatr.* 1986; 16: 121-184.
39. Chapell, CL; Matson Christine, C: Giardia antigen detection in patients with chronic gastrointestinal disturbances. *J. Fam. Pract.* 1992; 35: 49-53.
40. Chute, CG; Smith, RP; Baron, JA: Risk factors for endemic giardiasis. *Am. J. Public. Health.* 1987; 77: 585-587.
41. Danciger, M; López, M: Numbers of Giardia in the feces of infected children. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1975; 24: 237-242.
42. Daniel, WW. *Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud*. 3ª Ed. Limusa. México. DF. 1990: 171-217.
43. Das, S; Reiner, DS; Zenian, J et al: Killing of Giardia lamblia trophozoites by human intestinal fluid in vitro. *J. Infect. Dis.* 1988; 157: 1257-1260.
44. Díaz, V; Verdejo, MJ; Campos, M; Mañas, I; Lozano, J; Peis, J: Prevalencia de algunas protozoosis intestinales humanas en la provincia de Granada. *Rev. Iber. Parasitol.* 1988; 48: 119-125.
45. Di Prisco, MC; Hagel, I; Lynch, NR; Barrios, RM; Alvarez, N; López, R: Possible relationship between allergic disease and infection by Giardia lamblia. *Annals of Allergy*. 1993; 70: 210-213.

46. Dupont, HL; Sullivan, PS: Giardiasis: The clinical spectrum, diagnosis and therapy. *Ped. Inf. Dis.* 1986; 5: S 131-137.
47. Eckert, J: New aspects of parasitic zoonoses. *Vet. Parasitol.* 1989; 32: 37-55.
48. Edson, CM; Farthing, MJG; Thorley-Lawson, DA; Keusch, GT: An 88.000-MR *Giardia lamblia* surface protein which is immunogenic in humans. *Infec. Immun.* 1986; 54: 621-625.
49. Ekanem, EE; Dupont, HL; Pickering, LK; Selwyn, BJ; Hawkins, CM: Transmission dynamics of enteric bacteria in day care centers. *Am. J. Epidemiol.* 1983; 118: 562-572.
50. Elorza, MD; López Herce, J; Alvarez-Coca, J; Martínez Debora, MJ; Polanco, I: Giardiasis en la infancia. I: generalidades, epidemiología y patogenia. *Pediatr. Pediatr. 1984; 4: 57-65.*
51. Encinas Sotillos, A; Cano López, JM; Larrauri, J: Giardiasis. *Med. Integral.* 1990; 16: 36-47.
52. Escribano Ceruelo, E: Comparación de tres métodos en el diagnóstico de la giardiasis. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. 1992.
53. Farthing, MJG: Host-parasite interactions in human giardiasis. *Quart. J. Med.* 1989; 263: 191-204.
54. Farthing, MJG: Immunopathology of giardiasis. Springer. *Semin. Immunopathol.* 1990; 12: 269-282.
55. Farthing, MJG; Chong, JA; Walker Smith, M: Acute allergic phenomene in giardiasis. *Lancet.* 1983; 17: 1428.
56. Farthing, MJG; Keusch, GT; Carey, MC; Varón, S: Effects of bile and bile salts on growth and membrane lipid uptake by *Giardia lamblia*: possible implications for pathogenesis of intestinal disease. *J. Clin. Invest.* 1985; 76: 1727-1732.
57. Farthing, MJG; Mata, L; Urrutia, JJ; Kronmal, RA: Natural history of *Giardia* infection of infants and children in rural Guatemala and its impact on physical growth. *Am. J. Clin. Nutr.* 1986 b; 43: 395-405.
58. Feely, DE; Holberton, DV; Erlandsen, SL: The biology of giardia. In: Meyer, EA. (ed). *Giardiasis.* Elsevier Science Publishers. BV. Amsterdam. 1990: 11-49.
59. Fernández García, JR; Aguilar Cano, R: Giardiasis en la infancia. Estudio a nivel ambulatorio. *Rev. Esp. Pediatr.* 1988; 44: 73-76.
60. Fernández Domínguez, L; Fernández Seara, J; Pérez de Juan Romero, MA; Pérez Pombo, S; De Toro Santos, M: Sistema inmune gastrointestinal. *Rev. Esp. Enf. Digest.* 1992; 82: 177-185.
61. Fontaine, JP; Delage, A; Lauraire, MCL: Sur l epidemiologie de la giardiase. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 1984; 59: 541-554.

62. Fraser, GG; Cooke, KR: Endemic giardiasis and municipal water supply. *Am. J. Publ. Health.* 1991; 81: 760-761.
63. Ganguly, NK; Mahajan, RC; Vasudev, V; Krishna, VR; Anand, BS; Dilawari, JB; Chandanani, RE: Comparative evaluation of indirect haemagglutination and immunofluorescence test in serodiagnosis of giardiasis. *Indian. J. Med. Res.* 1981; 73: 111-113.
64. García Martos, P; Díaz Portillo, J; Agudo Pérez, E; Chozas Candanedo, N: Giardiasis: una parasitosis de actualidad. *Semer.* 1990; 122: 270-277.
65. García Martos, P; Moreno, B; Romero, P; Pimentel, R; Muñoz, C; Fernández, MT; García de Lomas, MO: Parasitación intestinal por protozoos en niños de la bahía de Cádiz. *Rev. San. Hig. Pub.* 1989; 63: 79-84.
66. García-Peñarrubia, MP; Campos Ros, J; Martín Luengo, F: Incidencia de giardiasis entre la población infantil de Murcia. *Rev. Iber. Parasitol.* 1981; 41: 569-580.
67. García Rodríguez, JA; Martín Sánchez, AM; Canut, A; García, I: Incidencia de las parasitosis intestinales en la provincia de Salamanca. Estudio de cuatro años. *Rev. Esp. Microbiol. Clín.* 1987; 2: 382-384.
68. García Rodríguez, JA; Martín Sánchez, AM; Pérez Zaballos, MT: Valoración de los métodos utilizados en el diagnóstico de parásitos intestinales. *Laboratorio.* 1985; 79: 279-286.
69. García Rodríguez, JA; Martín Sánchez, AM; Pérez Zaballos, MT: Incidencia de parasitismos intestinales humanos en la provincia de Salamanca. *Rev. Iber. Parasitol.* 1985; 45: 129-139.
70. Garrido Martín, JA; Cortina de la Calle, P; Canut Blasco, A; Martín Sánchez, AM: urticaria crónica asociada a giardiasis. *Med. Clín.* 1988; 91: 38.
71. Gillin, FD: Giardia lamblia: The role of conjugated and unconjugated bile salts in killing by human milk. *Exp. Parasitol.* 1987; 63: 74-83.
72. Gillin, FD; Reiner, DS; McCaffery, M: Organelles of protein transport in Giardia lamblia. *Parasitol. Today.* 1991; 7: 113-116.
73. Gilman, RH; Brown, KH; Visvesvara, GS et al: Epidemiology and serology of Giardia Lamblia in a developing country: Bangladesh. *Trans. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1985; 79: 469-473.
74. Goiriena de Gandarias, FJ; Barranquero Arola, M; Gorritxo, GB: Estudio de parásitos en heces procedentes de población escolar. *Rev. San. Hig. Pub.* 1983; 57: 959-967.
75. Goka, AKJ; Rolston, DDK; Mathan, VI; Farthing, MJG: Diagnosis of giardiasis by specific IgM antibody enzyme-linked immunosorbent assay. *Lancet.* 1986; 2: 184-186.

76. Goka, AKJ; Rolston, DDK; Mathan, VI; Farthing, MJG: Human serum IgA response to Giardia Lamblia. Gut. 1987; 28: A 1351.
77. González Gay, MA; Cereiño, MJ; Agüero, JJ; Sánchez Andrade, A: artritis reactiva a Giardia lamblia. Med. Clín. 1992; 99: 359.
78. Green, EL; Miles, MA; Warhurst, DC: Immunodiagnostic detection of Giardia antigen in faeces by a rapid visual enzyme-linked immunosorbent assay. Lancet. 1985; 2: 691-693.
79. Hamadto, HH; Rashad, SM; El-Ridi, AM; Amin, FA; Lotfy, NA; Darwish, SA; Younis, MS: Effect of diet on experimental giardiasis. J. Egypt. Soc. Parasitol. 1989; 19: 573-581.
80. Harter, L; Frost, F; Jakubowski, W: Giardia prevalence among 1-to-3 year-old children in two Washington state counties. Am. J. Public Health. 1982; 72: 386-388.
81. Hossain, MM; Ljungström, I; Glass, RI; Lundin, L; Stoll, BJ; Huldt, G: Amoebiasis and giardiasis in Bangladesh: parasitological and serological studies. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 1983; 77: 552-554.
82. Hughes, WS; Cerda, JJ; Holtzapple, P; Brooks, FP: Primary hipogammaglobulinemia and malabsorption. Ann. Inter. Med. 1971; 70: 903-910.
83. Hull, BP; Spence, L; Bassett, D; Swanston, WH; Tikasingh, ES: The relative importance of rotavirus and other pathogens in the etiology of gastroenteritis in Trinidadian children. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1982; 31: 142-148.
84. Igea, AM; Zapatero, LM: Estudio comparativo de diversas técnicas coprológicas. Rev. Iber. Parasitol. 1986; 64: 327-332.
85. Isaac-Renton, JL : Laboratory diagnosis of giardiasis. Clinics in Laboratory Medicine. 1991; 11: 811-827.
86. Ish-Horowicz, M; Korman, SH; Shapiro, M; Har-Even, U; Tamir, I; Strauss, N; Deckelbaum, RJ: Asymptomatic giardiasis in children. Pediatr. Infec. Dis. J. 1989; 8: 773-779.
87. Islam, A: Giardiasis in developing countries. In: Meyer, EA. (ed). Giardiasis. Elsevier Science Publisher. BV. Amsterdam. 1990: 235-266.
88. Islam, A; Stoll, BJ; Ljungström, I; Biswas, J; Nazrul, H; Huldt, G: Giardia lamblia infections in a cohort of Bangladesh mothers and infants followed for one year. J. Pediatr. 1983; 102: 996-1000.
89. Istre, GR; Dunlop, TS; Gaspard, GB; Hopkins, RS: Waterborne giardiasis at a mountain resort: Evidence for acquired immunity. Am. J. Public Health. 1984; 74: 602-604.
90. Janoff, EN; Smith, PD: The role of immunity in Giardia infections. In: Meyer, EA (ed). Giardiasis. Elsevier Science Publishers. BV. Amsterdam. 1990: 215-233.

91. Jarabo García, MT; García Morán, NP; García Morán, JI: Prevalencia de parasitosis intestinales en una población escolar. *Enf. Infec. Microbiol. Clín.* 1995; 13:464-468.
92. Jarroll, EL; Hoff, JC; Meyer, EA: Resistance of cysts to disinfection agents. In: Meyer, EA; Erlandsen, SL (eds). *Giardia and Giardiasis*. Plenum Press. New York. 1984:311-328.
93. Jephcott, AE; Begg, NT; Baker, IA: Outbreak of giardiasis associated with mains water in the United Kingdom. *Lancet*. 1986; 1:730-732.
94. Jiménez, C; González Iglesias, C; De Armas, C; Rodríguez Caabeiro, F: Estudio de la incidencia de las parasitosis gastrointestinales en niños de edad preescolar en el término municipal de Alcalá de Henares. *Anál. Clín.* 1994; 74:21-24.
95. Jimeno, C; Segarra, C; García de Lomas, J: Efecto de la ausencia de vitaminas en la dieta sobre la excreción de quistes de *Giardia*: estudio experimental. *An. Esp. Pediatr.* 1985; 23:12-16.
96. Jokipii, AMM; Jokipii, L: Prepatency of giardiasis. *Lancet*. 1977; 1:1095-1097.
97. Jokipii, AMM; Jokipii, L: Serum IgG, IgA, IgM and IgD in giardiasis: The most severely ill patients have little IgD. *J. Infect. Dis.* 1982; 5:189-193.
98. Jokipii, L; Miettinen, A; Anssi, M; Jokipii, AMM: Antibodies to cysts of *Giardia lamblia* in primary giardiasis and in the absence of giardiasis. *J. Clin. Microbiol.* 1988; 26:121-125.
99. Jones, JE: Giardiasis. *Primary Care*. 1991; 18:43-51.
100. Jones, EG; Brown, WR: Serum and intestinal fluid immunoglobulins in patients with giardiasis. *Am. J. Dig. Dis.* 1974; 19:791-796.
101. Kaminsky, RG: Parasitism and diarrhoea in children from two rural communities and marginal barrio in Honduras. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1991; 85:70-73.
102. Kanwar, SS; Ganguly, NK; Walia, BNS; Mahajan, RC: Enumeration of small intestinal lymphocyte population in *G. lamblia* infected mice. *J. Diar. Dis. Res.* 1984; 2:234-248.
103. Kappus, K; Juranek, D: *Giardia* in the well (letter). *JAMA*. 1988; 259:1810.
104. Karabbiber, N; Aktas, F: Food borne giardiasis. *Lancet*. 1991; 337:376-377.
105. Kasim, AA; Elhelu, MA: Giardiasis in Saudi Arabia. *Acta. Trop.* 1983; 40:155-158.
106. Katelaris, PH; Farthing, MJG: Diarrhoea and malabsorption in giardiasis: A multifactorial process? *Gut*. 1992; 33:295-297.

107. Kavousi, S: Giardiasis in infancy and childhood. A prospective study of 160 cases with comparison of quinacrine and metronidazol. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1979; 28:19-23.
108. Keusch, GT: Control of intestinal protozoal infections: Realities and opportunities. In: Chagas, C; Keusch, GT (eds). *The interaction of parasitic diseases and nutrition. Pontificiae Academiae Scientiarum. Scripta Varia.* 1985; 61:285-299.
109. Keystone, JS; Krajden, S; Warren, MR: Person-to-person transmission of *Giardia lamblia* in day care nurseries. *Can. Med. Assoc. J.* 1978; 119:241-248.
110. Keystone, JS; Yanf, J; Grisdale, D et al: Intestinal parasites in metropolitan Toronto day care centers. *Can. Med. Assoc. J.* 1984; 131:733-735.
111. Levine, WC; Stephenson, WT; Craun, GF: Water-borne disease outbreaks 1986-1988. Morbidity and mortality. *Weekly Report.* 1990; 30:1-13.
112. Ljungström, I; Castor, B: Immune response to *Giardia lamblia* in a water-borne outbreak of giardiasis in Sweden. *J. Med. Microbiol.* 1992; 36:347-352.
113. Logston, GS; Dewall, FB; Hendricks, DW: Filtration as a barrier to passage of cysts in drinking water. Meyer, EA; Erlandsen, SL (eds). In: *Giardia and Giardiasis.* Plenum Press. New York. 1984:287-309.
114. López Brea, M; Barreno, M; Gutiérrez, G; Gómez, A: *Giardia lamblia* como microorganismo productor de cuadros diarreicos. *Rev. San. Hig. Pub.* 1982; 56:277-284.
115. López Longo: artritis inducida por infestación parasitaria (*Giardia lamblia*). *Rev. Esp. Reumatol.* 1986; 13:113.
116. Mahbubani, MG; Bej, AK; Perlin, MG; Schaefer, FW; Jakubowski, W; Atlas, RM: Differentiation of *Giardia duodenalis* from other *Giardia* by using polymerase chain reaction and gene probes. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 30:74-78.
117. Maldonado Lozano, J; Hernández Gómez, MV: Giardiasis en la infancia. *Jano.* 1990; 39:67-70.
118. Mason, PR; Patterson, BA; Loewenson, R: Piped water supply and intestinal parasitism in Zimbabwean school children. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1986; 80:88-93.
119. Meloni, BP; Lymbery, AJ; Thompson, RCA ; Gracey, M: High prevalence of *Giardia lamblia* in children from a W.A. aboriginal community. *Med. J. Austr.* 1988 b; 149:715.
120. Meyer, EA: Taxonomy and nomenclature. Meyer, EA (ed) In: *Giardiasis.* Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam. 1990: 51-59.

121. Meyer, EA: The epidemiology of giardiasis. *Parasitol. Today*. 1985; 1: 101-105.
122. Meyer, EA; Radulescu, S: In vitro cultivation of *Giardia* trophozoites. Erlandsen, SL; Meyer, EA (eds). In: *Giardia and Giardiasis*. Plenum Press. New York and London. 1984: 99-108.
123. Miotti, PG; Gilman, RH; Santosham, M; Ryder, RW; Yolken, RH: Age-related rate of seropositivity of antibody to *Giardia lamblia* in four diverse populations. *J. Clin. Microbiol.* 1986; 24: 972-975.
124. Miotti, PG; Gilman, RH; Pickering, LK; Ruiz-Palacios, G; Park, HS; Yolken, RH: Prevalence of serum and milk antibodies to *Giardia lamblia* in different populations of lactating women. *J. Infect. Dis.* 1985; 152: 1025-1032.
125. Mitchell, GF; Anders, RF; Brown, GV; et al: Analysis of infection characteristics and anti-parasite immune responses in resistant compared with susceptible host. *Immunological. Rev.* 1982; 61: 137-188.
126. Molina, JA; Muñoz, A; Hernández, MV; Macías, F; Campos, A; Crespo, VP: Infestación por *Giardia lamblia*. Contribución de la microscopía electrónica de barrido. *An. Esp. Pediatr.* 1985; 22: 117-124.
127. Moody, AH; Ridley, DS; Tomkins, AM; Wright, SG: The specificity of serum antibodies to *Giardia lamblia* and to enterobacteria in gastrointestinal disease. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1982; 76: 630-632.
128. Moorehead, P; Guasparini, R; Donovan, CA; Mathias, RG; Cottle, R; Baytalan, G: Giardiasis outbreak from a chlorinated community water supply. *Can. J. Publ. Health.* 1990; 81: 358-362.
129. Nash, T: Surface antigen variability and variation in *Giardia Lamblia*. *Parasitol. Today*. 1992; 8: 229-234.
130. Nash, TE; Herrington, DA; Losonsky, GA; Levine, MM: Experimental human infections with *Giardia lamblia*. *J. Infect. Dis.* 1987; 156: 974-984.
131. Nayak, N; Ganguly, NK; Walia, BNS; Wahi, V; Kanwar, SS; Mahajan, RC: Specific secretory IgA in the milk of *Giardia Lamblia* infected and uninfected women. *J. Infect. Dis.* 1987; 155: 724-727.
132. OMS. Organización Mundial de la Salud: Prevención y control de infecciones parasitarias intestinales. Serie de informes técnicos. N° 749. Ginebra. 1987.
133. OMS. Organización Mundial de la Salud: Infecciones intestinales por protozoos y helmintos. Serie de informes técnicos. N° 666. Ginebra. 1981.
134. Organización Panamericana de la Salud. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. Abram, DC; Benenson, S (Eds). 13ª. Edición. Publicación científica N° 442. OPS. Washington, DC. 1983: 200-202.

135. Ortiz Arduan, A; Castrillo, JM; Carreira, J; López Cubero, L; Miranda, R; Jiménez Casado, M: Gastroenteritis con eosinofilia por Giardia lamblia. Rev. Clín. Esp. 1990; 197: 68-70.
136. Osterholm, MT; Forfang, JC; Risniten, TL; Dean, AG; Washburn, JW; Godes, JR et al: An outbreak of foodborne giardiasis. N. Engl. J. Med. 1981; 304: 24-27.
137. Pardo, F; López Paz, JM; Longo, E; Garrido, MJ: Epidemiología de la giardiasis en la población gallega. Rev. Esp. Microbiol. Clín. 1989; 4: 639-642.
138. Peattie, DM: The giardins of Giardia lamblia: genes and proteins with promise. Parasitol. Today. 1990; 6: 52-56.
139. Pérez Choliz, V; Clavel, A; Armas, H; Marcos, G; Gómez Lus, R; Bueno, M: Parasitosis intestinales, aportación a su diagnóstico clínico. An. Esp. Pediatr. 1982; 4: 295-302.
140. Pérez Sola, A: Problemática de la giardiasis en la infancia. Tesina de Licenciatura. Universidad Autónoma de Madrid. Facultad de Medicina. 1982.
141. Perlmutter, DH; Leichtner, AM; Goldman, H; Winter, HS: Chronic diarrhoea associated with hypogammaglobulinemia and enteropathy in infants and children. Dig. Dis. Sci. 1985; 30: 1149-1155.
142. Petersen, LR; Carter, ML; Hadler, JL: A food-borne outbreak of giardia lamblia. J. Infec. Dis. 1988; 157: 846-848.
143. Phillips, SC; Mildvan, D; Williams, DC; Gelb, AM; White, MC: Sexual transmission of enteric protozoan and helminths in a venereal disease clinic population. N. Engl. J. Med. 1981; 305: 603-606.
144. Pickering, LK; Bartlett, AV; Woodward, WE: Diarrhea in day care center. Ped. Inf. Dis. 1985; 4: 219-227.
145. Pickering, LK; Engelkirk, PG: Giardia lamblia. Pediatr. Clin. North. Am. 1988; 35: 565-577.
146. Pickering, LK; Engelkirk, PG: Giardia among children in day care. In: Meyer, EA. (ed). Giardiasis. Elsevier Science Publishers. BV. Amsterdam. 1990: 295-303.
147. Pickering, LK; Woodward, WE; Dupont, HL; Sullivan, P: Occurrence of Giardia lamblia in children in day care centers. J. Pediatr. 1984; 104: 522-526.
148. Plorde, JJ: giardiasis. En: Principios de medicina interna. Harrison. Braunwald, E; Isselbacher, KJ; Petersdorf, RG; Martin, JB; Fauci, AS; Root, RK; Wilson, JD. (eds). Interamericana, S.A. México. 1991: 937-939.
149. Polis, MA; Tuazon, CO; Alling, DW; Talmanis, E: Transmission of Giardia lamblia from a day care center to the community. Am. J. Public Health. 1986; 76: 1142-1144.

150. Popovic, O; Pendic, B; Paljm, A; Andrejevic, M; Trpkovic, D: Giardiasis local immune defense and responses. Eur. Soc. Clin. Invest. 1974; 4: 380.
151. Porta Serra, M: La observación clínica y el razonamiento epidemiológico. Med. Clín. 1986; 87: 816-819.
152. Portús, M; Prats, G: Contribución al conocimiento de las protozoosis intestinales en la población hospitalaria barcelonesa. Med. Clín. 1981; 76: 203-205.
153. Pozo Rodríguez, F: La eficacia de las pruebas diagnósticas (1). Med. Clín. 1988; 90: 779-785.
154. Pozo Rodríguez, F: La eficacia de las pruebas diagnósticas (2). Med. Clín. 1988; 91: 177-183.
155. Rauch, AM; Van, R; Bartlett, AV; Pickering, LK: Longitudinal study of Giardia lamblia infection in a day care center population. Pediatr. Infec. Dis. J. 1990; 9: 186-189.
156. Rendtorff, RC: The experimental transmission of human intestinal protozoan parasites: II. Giardia lamblia cysts given in capsules. Am. J. Hyg. 1954; 59: 209-220.
157. Ridley, MJ; Ridley, DS: Serum antibodies and jejunal histology in giardiasis associated with malabsorption. J. Clin. Pathol. 1976; 29: 30-34.
158. Riggs, JL; Dupuis, KW; Nakamura, K; Spath, DP : Detection of Giardia lamblia by immunofluorescence. Appl. Environ. Microbiol. 1983; 45: 698-700.
159. Ritchie, LS: An ether sedimentation technique for routine stool examinations. Bull. U.S. Army. Med. Dept. 1948; 8: 326.
160. Roberts-Thompson, IC; Anders, RF: Serum antibodies in adults with giardiasis. Gastroenterol. 1981; 80: 1262.
161. Rodríguez Artalejo, F; Banegas Banegas, JR; González Enriquez, J; Martín Moreno, JM; Villar Alvarez, F: Análisis de decisiones clínicas. Med. Clín. 1990; 94: 348-354.
162. Rojas, L; Torres, DR; Mediola, BJ; Finlay, CM: Detection of specific anti-Giardia serum antibody by an immunofluorescence test in children with clinical giardiasis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1989; 40: 477-479.
163. Rosenthal, P; Liebman, WM: Comparative study of stool examinations, duodenal aspiration and pediatric entero-test for the diagnosis of giardiasis in children. J. Pediatr. 1980; 96: 278-279.
164. Sagi, EF; Shapiro, M; Oeckelbaum, RJ: Giardia lamblia: Prevalence, influence on growth, and symptomatology in healthy nursery children. Isr. J. Med. Sci. 1983; 19: 815-817.
165. Savel, J: La giardiasis y la balantidiasis. En Parasitología. Barcelona. Ed. Glosa. 1980: 55-58.

166. Sealy, DP; Schuman, SH: Endemic giardiasis and day care. *Pediatrics*. 1983; 72:154-158.
167. Serra, T; Bras, J; Portús, M; Jover, L; Font, I; Gallego, J: Sobre la epidemiología de los protozoos intestinales en Barcelona. *Rev. Iber. Parasitol.* 1987, Vol. Extra: 17-24.
168. Shukry, S; Zaki, AM; Dupont, HL; Shukry, I; El Tagi, M; Hamed, S: Detection of enteropathogens in fatal and potentially fatal diarrhoea in Cairo, Egypt. *Clin. Microbiol.* 1986; 24:959-962.
169. Smith, PD; Gillin, FD; Brown, WR; Nash, TE: IgG antibodies to *Giardia lamblia* detected by enzyme-linked immunosorbent assay. *Gastroenterol.* 1981; 80:1476-1480.
170. Sogayar, MIL; Gregorio, EA: Uptake of bacteria by trophozoites of *Giardia duodenalis*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1989; 83:63-66.
171. Sotto Escobar, A; Pérez Brioso, A: Diagnóstico de la giardiasis. *Rev. Cub. Med. Trop.* 1983; 35:62-73.
172. Sox, HC: Probability theory in the use of diagnostic tests. *Ann. Inter. Med.* 1986; 104:60-66.
173. Speelman, P; Ljungström, I: Protozoal enteric infections among expatriates in Bangladesh. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1986; 35: 1140-1145.
174. Steffen, R; Rickenbach, M; Wilhelm, V; Helminger, A; Shar, M: Health problems after travel to developing countries. *J. Infect. Dis.* 1987; 156:84-91.
175. Sullivan, R; Calvin, C; Linneman, JR; Scott Clark, C; Walzer, PD: Seroepidemiologic study of giardiasis patients and high-risk groups in a Midwestern city in the United States. *Am. J. Public Health.* 1987; 77:960-963.
176. Taylor, GD; Wenman, WM: Human immune response to *Giardia Lamblia* infection. *J. Infect. Dis.* 1987; 155:137-140.
177. Tibayrene, M; Kjellberg, F; Ayala, FJ: A clonal theory of parasitic: The population structures of *Entamoeba*, *Giardia*, *Leishmania*, *Naegleria*, *Plasmodium*, *Trichomonas* and *Trypanosoma* and their medical and taxonomical consequences. *Proceed. Nat. Acad. Sci. USA.* 1990; 87:2414-2418.
178. Thompson, RCA: Parasitic zoonoses problems created by people, not animals. *Inter. J. Parasitol.* 1992 b; 22:555-561.
179. Thompson, RCA; Reynoldson, JA; Mendis, AHW: *Giardia* and Giardiasis. Host-parasite relationships VI. In: Backer, JR; Muller, R (eds). *Advances in parasitology*. vol 32. Academic Press. London. 1993:108-113.
180. Thompson, RCA; Reynoldson, JA; Mendis, AHW: Taxonomy, nomenclature and genetics III. In: Baker, JR; Muller, R (eds).

Advances in Parasitology. Academic Press. London. 1993:78-82.

181. Thompson, RCA; Reynoldson, JA: Giardia and giardiasis. Morphology and ultrastructure. II. In: Baker, JR; Muller, R (eds) advances in Parasitology. Academic Press. London. 1993:73-78.

182. Tojo, R; Pardo, F; García Arias, M; García Alonso, L; Pavón, P; Segade, SR: Estudio epidemiológico, inmunológico y ultraestructural de las parasitosis intestinales en Galicia. An. Esp. Pediatr. 1985;22:106-110.

183. Valladares, B; López Román, R; De Armas, F; Gijón, H: Estudio epidemiológico del parasitismo intestinal humano en el Archipiélago Canario. Laboratorio. 1983;74:53-76.

184. Varga, L; Delage, G: Giardia Lamblia infestation in day care centers. Nutritional impact in infested children. Arch. Fr. Pediatr. 1990;47:5-8.

185. Vasallo Matilla, F; Jimeno Ortiz, A: Estudio entero-parasitológico en diversos colectivos humanos extremeños. Laboratorio. 1985;79:299-313.

186. Vasallo Matilla, F; Vos Sans, R; Rivera Guerrero, MA: Nuevas aportaciones al conocimiento de las parasitosis humanas en el medio rural español. Rev. San. Hig. Pub. 1982;56:285-298.

187. Vinayak, VK; Jain, P; Naik, SR: Demonstration of antibodies in giardiasis using the immunodiffusion technique with Giardia cysts as antigen. Ann. Trop. Med. Parasitol. 1978;72:581-582.

188. Visvesvara, GS; Healey, GR: The possible use of an indirect immunofluorescent test using axenically grown Giardia lamblia antigens in diagnosing giardiasis. In: Jakubowski, W and Hoff, JC (eds). Waterborne transmission of giardiasis. Environmental Protection Agency. 600/9/79-001. 1979:53-63.

189. Visvesvara, GS; Smith, PD; Healy, GR; Brown, WR: Serum antibodies to Giardia Lamblia demonstrated by immunofluorescence. Ann. Intern. Med. 1980;93:802-805.

190. Wallia, BNS; Ganguly, NK; Majahan, RC; Kumar, D; Madan, IJ; Gambhir, SK; Kamwar, SS: Morbidity in preschool Giardia cyst excretors. Trop. Geogr. Med. 1986;38:367-370.

191. Wang, AL; Wang, CC: Discovery of a specific double-stranded RNA virus in Giardia lamblia. Mol. Biochem. Parasitol. 1986;21:269-276.

192. Wang, AL; Wang, CC: Viruses of parasitic protozoa. Parasitol. Today. 1991;7:76-80.

193. Webster, BH: Human infection with Giardia lamblia. Am. J. Dig. Dis. 1958;3:64-71.

194. Winiecka, J; Kasprzak, W; Kociecka, W; Plotkowiak, J; Myjak, P: Serum antibodies to Giardia intestinalis detected

by immunofluorescence using trophozoites as antigen. Tropenmed. Parasitol. 1984;35:20-22.

195. Wittner, M; Maayan, S; Farrer, W; Tanowitz, HB: Diagnosis of giardiasis by two methods. Arch. Pathol. Lab. Med. 1983;107: 524-527.

196. Wolfe, MS: Symptomatology, diagnosis and treatment. In: Meyer, EA; Erlandsen, SL (eds): Giardia and Giardiasis Biology, Pathogenesis and Epidemiology. New York. Plenum Press. 1984:147.

197. Wolfe, MS: Giardiasis. Pediatr. Clin. North. Am. 1979;26:295-303.

198. Wolfe, MS: Giardiasis. Clin. Microbiol. Rev. 1992;5:93-100.

199. Wolfe, MS: Clinical symptoms and diagnosis by traditional methods. In: Meyer, EA. (ed). Giardiasis. Elsevier Science Publishers. BV. Amsterdam. 1990:175-185.

200. Woo, PTK; Paterson, WB: Giardia lamblia in children in day care centers in Southern Ontario, Canada and susceptibility of animals to Giardia lamblia. Royal. Soc. Trop. Med. Hyg. 1986;80: 56-59.

201. Wright, SG; Moody, AH; Tomkins, AM; Ridley, DS: Fluorescent antibody studies in giardiasis. Gut. 1977;18:A 986.

202. Zenian, AJ; Gillin, FD: Intestinal mucus protects Giardia lamblia from killing by human milk. J. Protozool. 1987;34:22-26.

203. Zinneman, HH; Kaplan, AP: The association of Giardiasis with reduced intestinal secretory immunoglobulins. Am. J. Dig. Dis. 1972;17:793-797.