



## Giardiosis en edad pediátrica: aspectos epidemiológicos y relación de hallazgos moleculares con características clínicas de la infección

**UNIDAD EJECUTORA PRINCIPAL:** Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK). La Habana, Cuba

**Otras entidades participantes:** Hospital Pediátrico Docente William Soler. Centro Provincial de Higiene Epidemiología y Microbiología de Fomento, Sancti Spíritus. Instituto de Parasitología; Universidad de Berna, Suiza. Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología

**AUTORES:** Luis Enrique Jerez Puebla<sup>1</sup>, Fidel Ángel Núñez Fernández<sup>1</sup>, Norbert Müller<sup>4</sup>

**Otros autores:** Isabel Martínez Silva<sup>2</sup>, Jorge Fraga Nodarse<sup>1</sup>, Yenisey Alfonso Fernández<sup>1</sup>, Lucía Ayllón Valdés<sup>2</sup>, Lázara Rojas Rivero<sup>1</sup>, Iraís Atencio Millán<sup>1</sup>, Raúl Cordoví Prado<sup>1</sup>, Alexey Brito García<sup>3</sup>, Yuliet Méndez Sutil<sup>1</sup>, Raquel Junco<sup>5</sup>, Marta Martínez González<sup>2</sup>

**Colaboradores:** Xiomara Castell Fuentes<sup>1</sup>, Beltrán Velázquez<sup>1</sup>

**Filiación:** <sup>1</sup>Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK). La Habana, Cuba. <sup>2</sup>Hospital Pediátrico Docente William Soler. La Habana, Cuba. <sup>3</sup>Centro Provincial de Higiene Epidemiología y Microbiología de Fomento, Sancti Spíritus. <sup>4</sup>Instituto de Parasitología, Universidad de Berna, Suiza. <sup>5</sup>Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología. La Habana, Cuba

### RESUMEN

#### Palabras clave

*giardiosis; infancia; epidemiología; hallazgos moleculares; características clínicas*

La giardiosis es una infección intestinal causada por el protozoo intestinal *Giardia lamblia* que afecta al humano y a una amplia variedad de mamíferos. Esta entidad representa un problema de salud pública importante en países en vías de desarrollo debido a su alta prevalencia y la tendencia a causar brotes. En los niños, el grupo etario más vulnerable, está demostrada la asociación negativa que presenta esta infección intestinal con el desarrollo cognoscitivo y retardo en el crecimiento en los niños, por lo que el diagnóstico precoz de esta parasitosis resulta de gran importancia. Desde el punto de vista genético, *G. lamblia* se clasifica en 8 ensambles o grupos genéticos, designados de la letra A a la H, siendo los ensambles A y B los únicos que infectan al ser humano. En Cuba, según dos encuestas nacionales sobre parasitismo intestinal, *G. lamblia* constituye el protozoo intestinal más frecuentemente identificado en escolares y preescolares, por lo que resulta de gran importancia conocer la prevalencia de esta parasitosis en los niños, así como las características genéticas de este protozoo intestinal en este grupo etario. Esto permitiría dilucidar si diferencias en la sintomatología de la infección pudieran ser atribuidas a uno de estos ensambles. Es por ello que nos propusimos realizar una investigación de tres estudios de corte transversal en el período 2010-2013: 1) niños escolares y preescolares remitidos al Hospital Pediátrico William Soler; 2) pesquisa pa-

rasitológica en niños escolares de 3 municipios de La Habana y Estudio, y 3) pesquisa parasitológica en niños preescolares del municipio Fomento, provincia Sancti Spíritus, con el objetivo de describir la infección de *G. lamblia*, además de relacionar los resultados de la caracterización molecular de este protozoo intestinal mediante dos blancos genéticos con variables clínicas recogidas en encuestas epidemiológicas. En los estudios se obtuvo una frecuencia de infección del 22,8 %, 11,9 % y 10,8 %, respectivamente. En los estudios 2 y 3 se identificó la tenencia de perros en el hogar como factor de riesgo en la infección por *G. lamblia*; además, de forma interesante en el estudio 3 se evidenció que el consumo de agua no hervida (agua de pozo) incrementó significativamente el padecer de giardiosis. La utilización de dos genes en la caracterización molecular de este protozoo dio un nivel de concordancia perfecto (índice de kappa =1) para los genes *tpi* e IGS- ADN<sub>r</sub>, y de muy bueno con la combinación *tpi* y *gdh*. Se observó un predominio del ensamble B sobre los ensambles A y mixto A+B en los tres estudios realizados. Los subensambles AII y BIII, identificados por primera vez en Cuba, fueron los más predominantes. En los niños solo infectados con *Giardia*, se asoció estadísticamente la infección del ensamble B con diarrea, flatulencia o dolor abdominal, siendo esta asociación del ensamble B con estas mismas variables igualmente significativa en niños preescolares en comparación con los escolares. Los resultados obtenidos permiten una comprensión más integral de la dinámica de esta enfermedad multifactorial al combinar elementos moleculares, clínicos y epidemiológicos.

---

En Cuba se han realizado diversos estudios epidemiológicos con el objetivo de determinar la prevalencia y los factores de riesgos asociados a la giardiosis, principalmente en niños; no obstante, en la temática molecular de este protozoo solo hay publicado un estudio de 2008 que recoge resultados en una muestra de 20 niños. La provincia La Habana y el municipio de Fomento, en Sancti Spíritus, han desarrollado programas de vigilancia parasitológica y de intervención educativa en la población pediátrica mediante proyectos de colaboración entre el Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK), el Hospital Pediátrico Docente William Soler (HPD-WS) y el Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología. Esto ha permitido tener una panorámica general de las parasitosis intestinales y factores de riesgos asociados, así como de un número de aislamientos significativos para estudios moleculares en protozoos de importancia médica, especialmente *Giardia lamblia*. Dado que para algunos autores *G. lamblia* pudiera ser considerado un complejo de especies donde los ensambles genéticos que infectan al hombre, A y B, presentan diferencias filogenéticas que sustentan esta hipótesis, resulta de gran importancia conocer la prevalencia de esta parasitosis en los niños, así como las características genéticas de este protozoo intestinal en este grupo etario. Esto permitiría dilucidar si diferencias en la sintomatología de la infección pudieran ser atribuidas a uno de estos ensambles.

El objetivo fue determinar la frecuencia de infección y los factores de riesgos en esta parasitosis e identificar los ensam-

bles genéticos de aislamientos de *G. lamblia* y su asociación con aspectos clínicos en niños infectados con este parásito:

- Estudio 1: La Habana (2010-2011). Se analizaron muestras seriadas de heces de 452 niños, de los cuales 103 (22,8 %) resultaron positivos a la infección por *G. lamblia*. La mayoría de los casos infectados por este protozoo de importancia médica procedían de niños con sintomatología gastrointestinal (95/103; 92,2 %), en parte debido al diseño del presente estudio, en el cual 64 % (289/452) de los casos procedían de la consulta externa del Hospital Pediátrico Docente William Soler. No se evidenció asociación estadística entre las variables analizadas con la infección por *G. lamblia*, si bien los niños menores de 5 años de edad y aquellos que tenían perros en el hogar presentaron una mayor frecuencia de infección que sus contrapartes.
- Estudio 2: La Habana (enero-diciembre de 2013). Se estudiaron 639 niños procedentes de cuatro escuelas primarias de tres municipios de La Habana. Del total de niños evaluados, 76 (11,9 %) presentaron quistes o trofozoitos de *G. lamblia*. El análisis de los datos recogidos en las encuestas epidemiológicas mostró que la presencia de perros en el hogar estuvo estadísticamente asociada con la presencia de la infección en estos niños, comparado con aquellos que no presentaron perros en el hogar. Para las demás variables socio demográficas y epidemiológicas analizadas no se encontró asociación.

- Estudio 3: Fomento, Sancti Spíritus (enero-junio de 2013). Fueron estudiados 417 niños del municipio Fomento, provincia Sancti Spíritus, de los cuales 45 (10,8 %) estuvieron infectados por *G. lamblia*. La mayoría de los niños (67,9 %) provenían de la comunidad rural de Sopimpa de dicho municipio. El consumo de agua no hervida, sin clorar, proveniente de pozos y la tenencia de mascotas (perros) en el hogar estuvieron estadísticamente asociados a la infección por este parásito intestinal.

## Concordancia de las PCR utilizadas

### Estudio 1: genes *tpi* e IGS-ADNr

De los 103 aislamientos de *G. lamblia* que se identificaron en los estudios parasitológicos correspondiente al estudio 1, se identificó ADN del parásito en 90 (87,4 %) de ellos mediante ambos PCR, coincidiendo los resultados negativos mediante ambos marcadores genéticos. Seguidamente, se determinaron los ensamblajes del parásito cuya distribución fue la siguiente: 38 ensamblajes B (42,2 %), 36 ensamblajes A (40,0 %) y 16 infecciones mixtas A+B (17,8 %). La concordancia en la identificación de los ensamblajes de *G. lamblia* mediante ambos marcadores genéticos (*tpi* e IGS-ADNr) fue perfecta (índice  $kappa = 1$ ).

### Estudio 2: genes *tpi* y E1

En este estudio se identificaron 76 aislamientos de *G. lamblia*, de los cuales 63 (82,9 %) pudieron ser amplificados con el gen *tpi*, y 58 (76,3 %) con el gen E1, y 11 muestras resultaron negativas mediante ambas PCR. La concordancia de ambas PCR se obtuvo en 43 aislamientos, lo que arrojó el siguiente patrón de identificación: 4 ensamblajes A (9,3 %), 28 ensamblajes B (65,1 %) y 11 infecciones mixtas A+B (25,6 %). Los índices  $kappa$  para los ensamblajes A, B y A+B utilizando los dos marcadores genéticos empleados en este estudio fueron de 0,64 (IC al 95 %: 0,31-0,96); 0,56 (IC al 95 %: 0,37-0,74) y 0,39 (IC al 95 %: 0,18- 0,60, respectivamente).

### Estudio 3: genes *tpi* y *gdh*

En esta investigación realizada en el municipio Fomento, provincia Sancti Spíritus, en 417 niños preescolares se identificaron mediante estudios coproparasitológicos a 45 niños infectados por *G. lamblia* (10,8 %). De este total, se pudo amplificar el ADN de este parásito en 36 muestras (80,0 %) mediante el gen *tpi*, y 39 (86,7 %) con el empleo del gen *gdh*. Se obtuvo una concordancia en los resultados de ambas PCR en la identificación de 4 ensamblajes A, 15 ensamblajes B y 13 ensamblajes A+B para un índice de  $kappa$  de 0,62 (IC al 95 %: 0,29-0,95); 0,81 (IC al 95 %: 0,64-0,98) y 0,85 (IC al 95 %: 0,68-1,0).

## Identificación de subensambles de *G. lamblia*

En el estudio 1 utilizando la PCR anidada con el gen IGS-ADNr se identificó el subensamblaje AII en 45 (86,5 %) de las 52 muestras en las que fue detectado el ensamblaje A, incluyendo las infecciones mixtas. El subensamblaje AI, en menor proporción, se detectó en solo 11 muestras para 13,5 %. En el estudio 3, la PCR-RFLP que tuvo como blanco genético el gen *gdh* permitió diferenciar tanto los subensambles de A como de B, después de digestión enzimática con dos enzimas de restricción (*Nla* IV y *Rsa* I), según protocolo descrito por Read *et al.* (2004). Este marcador genético permitió identificar un predominio de las infecciones causadas por el subensamblaje BIII en 77,4 % de los aislamientos en los que se identificó ensamblaje B.

## Relación entre ensamblajes de *G. lamblia* y manifestaciones clínicas en niños

**Estudio 1:** Al comparar tres de los síntomas más comunes de esta enfermedad (diarrea o flatulencia o dolor abdominal), se identificó una asociación entre estas variables con la infección por el ensamblaje B de este protozoo intestinal ( $p = 0,0007$ ). Sin embargo, esta asociación no se obtuvo cuando este análisis se realizó con las infecciones producidas por el ensamblaje A y A+B, de *G. lamblia*, respectivamente.

**Estudio 2:** Debido al número limitado de infecciones causadas por el ensamblaje A de este parásito en la población estudiada, no fue posible la asociación entre este ensamblaje en particular con ningún síntoma típico de la giardiasis. Por esta razón el análisis estadístico agrupó por una parte el ensamblaje B y por otra parte un denominado grupo no B, el cual comprendió los niños infectados con los ensamblajes A y mixto A+B. La diarrea fue la única característica clínica asociada estadísticamente con la infección del ensamblaje B de *G. lamblia* ( $p < 0,05$ ), al ser comparada con la infección mixta (A+B).

**Estudio 3:** Se evidenció una diferencia significativa en el ensamblaje B, donde hubo un mayor riesgo de presentar uno de estos síntomas digestivos en comparación con los ensamblajes A y A+B combinados ( $p = 0,04$ ).

## Análisis general

Para conocer acerca de posibles diferencias en la sintomatología en población preescolar y escolar en cuanto a los ensamblajes genéticos de *G. lamblia* infectantes, se realizó un compendio de los datos de ambos grupos como se expone en la Tabla 1. De forma interesante, cuando se agruparon los síntomas diarrea, flatulencia y dolor abdominal, se constató una diferencia estadísticamente significativa (OR = 2,61;  $p = 0,02$ ) en los niños preescolares infectados por el ensamblaje B de este parásito en relación con los niños escolares.

**Tabla 1.** Relación entre la sintomatología en niños preescolares (<5 años) y escolares (>5 años) con el ensamble de *Giardia lamblia* infectante

Datos clínicos	Ensamble B		Ensamble A		Ensamblajes mixtos A+B	
	<5 años (n = 42) n (%)	>5 años (n = 37) n (%)	<5 años (n = 20) n (%)	>5 años (n = 22) n (%)	<5 años (n = 24) n (%)	>5 años (n = 15) n (%)
<u>Signo o síntoma</u>						
Sí	35 (83,33)	24 (64,86)	16 (80,0)	19 (86,36)	15 (62,5)	10 (66,67)
No	7 (16,67)	13 (35,14)	4 (20,0)	3 (13,64)	9 (37,5)	5 (33,33)
OR (IC al 95 %)	2,71 (0,96-7,59)		2,13 (0,14-2,95)		0,30 (0,22-3,13)	
Valor de P	P=0,05		P=0,44		P=0,53	
<u>Algunos síntomas digestivos*</u>						
Sí	31 (73,81)	18 (48,65)	12 (60,0)	17 (77,27)	12 (50,0)	7 (46,67)
No	11 (26,19)	19 (51,35)	8 (40,0)	5 (22,73)	12 (50,0)	8 (53,33)
OR (IC al 95 %)	2,97 (1,17-7,55)		0,44 (0,12-1,63)		1,14 (0,32-4,05)	
Valor de P	p = <b>0,02*</b>		p = 0,19		p = 0,14	

\* Diferencia significativa mediante prueba de  $\chi^2$

La caracterización molecular de *G. lamblia* introducida en el Laboratorio Nacional de Referencia de Parasitismo Intestinal en el IPK en el período de estudio reconoció al ensamble B de *G. lamblia* como el más frecuentemente identificado por los marcadores moleculares empleados. La asociación identificada en cuanto a la infección por este ensamble y el desarrollo de diarrea y dolor abdominal, pudieran apuntar al papel

más virulento de este grupo genético en los niños de nuestro país, principalmente los menores de 5 años.

#### AUTOR PARA LA CORRESPONDENCIA

**Luis Enrique Jerez Puebla.** Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. Ave Novia del Mediodía, km 6 1/2, La Lisa, La Habana, CP. 11400. Correo electrónico: ljerezp@ipk.sld.cu