

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Utilidad de 2 métodos coproparasitológicos y su empleo en un ensayo terapéutico anti giardiásico

Dra. Daimary Mendoza,¹ Dr. Fidel Ángel Núñez,² Dr. Ángel Arturo Escobedo,³ Dra. Liliana Pelayo,⁴ Dra. Maribel Fernández,¹ Lic. Dinorah Torres⁵ y Téc. Raúl A. Cordoví⁶

RESUMEN

Se realizó un estudio a 456 niños con edades de 1 a 5 años, pertenecientes a 4 guarderías infantiles del municipio San Miguel del Padrón, en el mes de noviembre de 1998; para evaluar el diagnóstico de *Giardia lamblia* y otros protozoos intestinales, utilizando comparativamente los métodos de diagnóstico coproparasitológicos de examen directo y la técnica de concentración de Ritchie o formol-éter. Además, se desarrolló un ensayo terapéutico, utilizando tinidazol y albendazol, para el tratamiento de la infección por *G. lamblia*. La técnica de concentración de Ritchie fue más efectiva que el examen microscópico directo para el diagnóstico de *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica/ Entamoeba dispar* y *Cyclospora cayetanensis* y se demostró la mayor sensibilidad del examen seriado sobre el análisis de una sola muestra ($p < 0,01$). Por otra parte, el tinidazol demostró mayor eficacia que el albendazol para el tratamiento de la infección por *G. lamblia*, con un mayor porcentaje de curación (72 % vs. 34,6 %) ($p < 0,01$).

DeCS: GIARDIA LAMBLIA/efecto de drogas; GIARDIA LAMBLIA/parasitología; GIARDIASIS/diagnóstico; GIARDIASIS/parasitología; GIARDIASIS/quimioterapia; TINIDAZOL/uso terapéutico; ALBENDAZOL/uso terapéutico; HECES/parasitología; PREESCOLAR; ESCUELAS DE PARVULOS; ENSAYOS CLINICOS.

Giardia lamblia es un parásito que habita en el duodeno y en el yeyuno superior, donde los trofozoítos se adhieren a la superficie epitelial del intestino, originando lesiones superficiales de tipo inflamatorio.^{1,2} Este protozoo intestinal se identifica con mayor frecuencia en las heces de los niños que en los adultos, en una proporción que puede llegar a ser hasta 3 veces mayor.³ Su distribución es mundial, con mayor incidencia en regiones tropicales y subtropicales donde existen condiciones higiénicas deficientes.^{1,2,4} La transmisión se realiza por vía fecal-oral, usualmente a través de agua y alimentos contaminados y el contacto personal entre individuos

infectados y no infectados.² Algunas de estas formas de transmisión se favorecen con mayor frecuencia en instituciones cerradas como las guarderías infantiles.^{5,6}

En Cuba, la prevalencia de la infección por *G. lamblia* es de 7,2 % según la encuesta nacional aplicada en 1984, con una muestra representativa de la población cubana; otros estudios realizados han señalado que casi 20 % de los niños cubanos que asisten a guarderías infantiles están infectados por *G. lamblia*.⁷

De acuerdo con la intensidad de la infección y el grado de deficiencia inmunológica, el espectro clínico de la giardiasis presenta grados variables;⁸

¹ Máster en Parasitología. Doctora en Medicina. Especialista de I Grado en Microbiología.

² Doctor en Medicina. Especialista de II Grado en Microbiología. Investigador Auxiliar.

³ Máster en Epidemiología. Doctor en Medicina. Especialista de II Grado en Microbiología.

⁴ Doctora en Medicina. Especialista de I Grado en Microbiología.

⁵ Licenciada en Bioquímica. Investigadora Agregada.

⁶ Técnico Medio en Microbiología.

a pesar de esto en todas las edades predominan los casos asintomáticos.²

El diagnóstico se hace al identificar los quistes y/o trofozoítos en heces, o estos últimos en el aspirado o biopsia duodeno-yeyunal.^{1,2} El examen simple de una sola muestra de heces en muchas ocasiones no es suficiente para diagnosticar la totalidad de los casos; no obstante, estos resultados pueden ser ampliamente mejorados con el examen de muestras seriadas, por lo que se recomienda examinar al menos 3 en un período de una semana y utilizar técnicas de concentración.⁷

Los derivados 5-nitroimidazólicos constituyen los medicamentos de elección para esta parasitosis; entre los más usados se pueden mencionar: metronidazol, tinidazol, ornidazol, secnidazol y otros compuestos como la furazolidona y la quinacrina.^{2,7}

Teniendo en cuenta los elementos enunciados antes, se realizó este trabajo para evaluar 2 métodos coproparasitológicos empleados para el diagnóstico de *G. lamblia* y otros protozoos intestinales, en niños que asisten a guarderías infantiles del municipio San Miguel del Padrón. Adicionalmente, considerando la ausencia de publicaciones nacionales y la existencia de pocas internacionales donde se estudie el albendazol como droga anti-giardiasis, este grupo de trabajo se propuso realizar un ensayo terapéutico utilizando tinidazol y albendazol, para evaluar el tratamiento de esta parasitosis con este último fármaco en Cuba.

MÉTODOS

El universo de trabajo estuvo constituido por 456 niños en edades de 1 a 5 años, que asistían a 4 guarderías infantiles del municipio San Miguel del Padrón. Las muestras fueron tomadas y examinadas durante el mes de noviembre de 1998. Previo consentimiento para el estudio, de todos los padres o tutores, se les entregó por cada niño, 3 frascos plásticos con tapas, limpios, secos y sin solución preservante. Además, se les explicó que las muestras fueran tomadas en días alternos por defecación espontánea y que evitasen la contaminación de los frascos de heces con algún elemento del exterior u orina.

Cada frasco fue rotulado con el nombre del niño, guardería a la que pertenecía y año de vida; las muestras fueron transportadas de inmediato

para ser examinadas en el Laboratorio de Parasitismo Intestinal, de la Subdirección de Parasitología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

En todos los casos se realizaron 3 exámenes coprológicos seriados utilizando los métodos de frotis directo simple y de concentración por la técnica de Ritchie.⁷ Los procedimientos técnicos fueron desarrollados "a ciegas" para comparar después sus resultados.

Aunque todos los niños positivos a quistes o trofozoítos de *G. lamblia* fueron tratados, se tomaron para el estudio de comparación de los esquemas de tratamiento 2 círculos al azar, y los niños positivos mayores de 2 años pertenecientes a estos. Para la distribución de los niños en cada uno de los grupos de tratamiento se creó una tabla aleatoria por sexo y año de vida, agrupando a estos en 2 esquemas terapéuticos: albendazol en dosis de 400 mg diarios por 5 d, y tinidazol 50 mg por kg de peso en dosis única.

Los medicamentos fueron administrados personalmente por los autores de este trabajo, con la ayuda de los padres y el personal de la salud de cada guardería. Para evaluar la curación fueron realizados 3 exámenes coproparasitológicos a los 7, 14 y 21 d posteriores al tratamiento; se consideraron curados solo aquellos niños cuyas 3 muestras se mantuvieran negativas.

Para el análisis de los resultados de esta investigación, se utilizaron las pruebas estadísticas de chi cuadrado, comparación de proporciones y Mc Nemar.

RESULTADOS

Del total de 456 niños incluidos en este estudio, 249 se encontraron parasitados por *G. lamblia*. En la tabla 1, al comparar cómo se comportó el diagnóstico a *G. lamblia* y el resto de los protozoos encontrados en el estudio por el examen microscópico directo y por la técnica de concentración de Ritchie, se encontró que en el caso de *G. lamblia*, la técnica de concentración de Ritchie fue significativamente superior desde el punto de vista estadístico con respecto al examen microscópico directo ($p < 0,0001$). Con respecto al resto de los protozoos parásitos la técnica de concentración de Ritchie fue también más efectiva

que el examen microscópico directo en el diagnóstico de *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* y *Cyclospora cayetanensis* ($p < 0,01$); no sucedió así en el caso de *Enteromonas hominis*, *Entamoeba coli* y *Endolimax nana*, donde no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ambas técnicas coproparasitológicas. Sin embargo, el examen microscópico directo permitió diagnosticar un número significativamente superior de casos en comparación a la técnica de concentración de Ritchie, solo en el caso de *Blastocystis hominis* ($p < 0,01$).

TABLA 1. Positividad a protozoos parásitos según método de examen directo y Ritchie en la población infantil estudiada

Protozoos parásitos	Examen directo		Ritchie	
	No.	(%)	No.	(%)
<i>Giardia lamblia</i> (n= 249)	214	(86,0)	249	(100)
<i>Blastocystis hominis</i> (n= 135)	118	(87,4)	38	(28,1)
<i>Endolimax nana</i> (n= 109)	78	(71,5)	80	(73,3)
<i>Entamoeba coli</i> (n= 50)	29	(58,0)	37	(74,0)
<i>Entamoeba histolytica/ E. dispar</i> (n= 26)	10	(38,4)	20	(77,0)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (n= 7)	0	(0)	7	(100)
<i>Enteromonas hominis</i> (n= 5)	1	(20,0)	4	(80,0)

El número de casos positivos a *G. lamblia* diagnosticados por el examen microscópico directo, al realizar la primera muestra fue de 163, elevándose a 214 al realizar la tercera muestra. La técnica de concentración de Ritchie tuvo un comportamiento similar porque permitió diagnosticar 249 casos después del examen seriado de 3 muestras de los 204 diagnosticados, con el uso de una sola muestra (tabla 2); esto mostró que la positividad a *G. lamblia* tanto por examen microscópico directo como por la técnica de concentración de Ritchie, fue incrementándose en la medida en que aumentaba el número de muestras ($p < 0,01$); no obstante, la técnica de concentración de Ritchie continuó siendo superior que el método de examen directo para el diagnóstico de esta infección ($p < 0,01$).

Cuando se comparó el porcentaje de niños sometidos a tratamiento con tinidazol y albendazol

para cada grupo de edad y sexo, no se encontraron diferencias significativas en ninguno ($p > 0,05$) (tabla 3). Además, al comparar las medias de las edades entre ambos grupos, no se encontraron diferencias significativas (prueba t de Student, $p > 0,05$); esto evidencia que ambos grupos son comparables.

Con respecto al ensayo terapéutico, se observa en la tabla 4, que a los 7 d después de haber administrado el tratamiento (primera muestra), el porcentaje de casos negativos a *G. lamblia* era muy similar para ambas drogas ($p > 0,05$). Sin embargo, a los 14 y 21 d (segunda y tercera muestras, respectivamente), aquellos pacientes que recibieron tratamiento con tinidazol tuvieron un porcentaje de curación significativamente superior que los tratados con albendazol ($p < 0,01$).

TABLA 2. Frecuencia acumulada de positividad a *G. lamblia* por examen microscópico directo y Ritchie en la población infantil estudiada

No. de la muestra positiva	Directo		Ritchie	
	No.	(%)	No.	(%)
Primera	163	(35,7)	204	(44,7)
Segunda	198	(43,4)	233	(51,0)
Tercera	214	(47,0)	249	(54,6)

(n= 456)

TABLA 3. Características de los grupos de tratamiento

Características	Medicamentos			
	Tinidazol (n= 43)		Albendazol (n= 49)	
	No.	(%)	No.	(%)
Sexo				
Femenino	20	(46,5)	25	(51,0)
Masculino	23	(53,4)	24	(49,0)
Edad (años)				
Intervalo	2-5		2-5	
Media (\pm DE)	3,21 (\pm 1,06)		3,20 (\pm 1,14)	

TABLA 4. Comportamiento de la curación a *G. lamblia* después del tratamiento en la población estudiada

Medicamentos	Tasa de curación					
	7 d		14 d		21 d	
	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
Tinidazol (n= 43)	42	(97,6)	37	(86,0)	31	(72,0)
Albendazol (n= 49)	48	(97,9)	29	(59,1)	17	(34,6)

DISCUSIÓN

Giardia lamblia fue la especie parasitaria más frecuente encontrada en este estudio, coincidiendo esos resultados con trabajos anteriores en el extranjero^{3,9} y en Cuba.¹⁰

El examen microscópico directo permitió diagnosticar un número menor de casos positivos a *G. lamblia* que la técnica de concentración de Ritchie; resultado lógico si se tiene en cuenta que este último método está basado en el proceso de sedimentación por centrifugación, concentrando a través de este principio físico, mayor cantidad de elementos parasitarios en las heces, lo que facilita un mejor diagnóstico.⁷

Existen reportes de autores que consideran la técnica de concentración de Ritchie, excelente no solo en el diagnóstico de quistes de protozoos, sino también para huevos y larvas de helmintos.^{11,12} En el caso de *Blastocystis hominis*, a diferencia del resto de los protozoos, la frecuencia de diagnóstico fue significativamente más alta por examen microscópico directo, lo que pudiera deberse a que este parásito se deforma o se destruye con la centrifugación o se concentra en la fase de anillo de residuos, lo cual dificulta su diagnóstico.^{13,14}

Se ha planteado que el examen de una sola muestra, no descarta la posibilidad de la existencia de un parasitismo cuando resulta negativa, pues en el caso de *G. lamblia* y otras parasitosis, es bien conocida la existencia de fases negativas, durante las cuales, no se expulsan al exterior quistes, huevos o larvas.^{1,2} En este trabajo se reitera el hecho de que la observación de varias muestras fecales aumenta considerablemente las probabilidades de encontrar parásitos, disminuyendo con esto la existencia de falsos negativos. *Marti y Koella*¹⁵ utilizaron un modelo matemático para mostrar la relación entre el número de muestras para diferentes parásitos intestinales y la frecuencia de falsos negativos. Ellos realizaron un estudio con 1 869 pacientes, en el cual demostraron cómo en el caso de *G. lamblia* y otros parásitos intestinales existe una relación de proporcionalidad inversa entre el número de muestras y el porcentaje de falsos negativos. Estos planteamientos están en correspondencia con los resultados de este estudio, donde se observó cómo entre la primera y la segunda muestra analizada y de esta a la tercera,

se incrementó el hallazgo de nuevos casos que habían sido negativos con la utilización de una sola muestra.

El porcentaje de curación obtenido con el uso de tinidazol en este ensayo (72 %) es similar a otros encontrados en la literatura revisada como los de *Ziganshina y Fuzailov*,¹⁶ y *Pensaa* y otros,¹⁷ los que demuestran una eficacia terapéutica con el uso del tinidazol superior a 90 %.

El porcentaje de curación obtenido con el uso del albendazol fue bajo (34,6 %), resultados que coinciden con los de *Kollaritsch* y otros,¹⁸ los cuales reportaron 10 % de curación con el empleo de este medicamento, tras realizar un ensayo con viajeros infectados por *G. lamblia* que regresaban de distintas regiones tropicales. Sin embargo, esta droga también ha sido reportada como satisfactoria en el tratamiento de esta parasitosis por otros autores.^{19,20}

La utilidad de un determinado compuesto anti-giardiasico depende de las dosis, vías de administración, grado de absorción, periodicidad y duración del tratamiento. Las razones por las que un medicamento no resulta efectivo son múltiples y no siempre dependen de las características químicas o farmacocinéticas del producto, sino de la dinámica que tiene lugar en la interfase medicamento-hospedero-parásito.²¹

Los resultados del presente trabajo demuestran la superioridad de la técnica de concentración de formol-éter con respecto al examen microscópico, tanto para el diagnóstico de *G. lamblia*, como para la mayoría de los protozoos intestinales; y se confirma la superioridad del examen seriado sobre el examen de una sola muestra. Todo esto lleva a recomendar el empleo de varias muestras por paciente y de técnicas de concentración, en las pesquisas parasitológicas que se realizan en determinados grupos de riesgo, como son los niños de guarderías infantiles. Por otra parte, los resultados obtenidos en el ensayo terapéutico demuestran la superioridad del tinidazol sobre el albendazol, lo que lleva a recomendar el empleo de las drogas 5-nitroimidazólicas para el tratamiento de los niños infectados en este tipo de instituciones.

SUMMARY

A study of 456 children aged 1-5 from 4 day care centers of San Miguel del Padrón municipality was conducted in November,

1998, to evaluate the diagnosis of *Giardia lamblia* and other intestinal protozoa by using comparatively the coproparasitological diagnostic methods of direct examination and Ritchie's concentration technique or formol-ether. Besides, a therapeutical trial was developed with tinidazole and albendazole for treating the infection caused by *G. lamblia*. Ritchie's concentration technique was more effective than the microscopic direct examination for diagnosing *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* and *Cyclospora cayetanensis*. It was demonstrated that the serial examination was more sensitive than the analysis of just one sample ($p < 0.01$). On the other hand, tinidazole proved to be more efficient than albendazole to treat the infection produced by *G. lamblia*, with a greater cure percentage (72 % vs. 33.6 %), ($p < 0.01$).

Subject headings: GIARDIA LAMBLIA/ drug effects; GIARDIA LAMBLIA/ parasitology; GIARDIASIS/ diagnosis; GIARDIASIS/ parasitology; GIARDIASIS/ drug therapy; TINIDAZOLE/ therapeutic use; ALBENDAZOLE/ therapeutic use; FECES/ parasitology; CHILD, PRESCHOOL; SCHOOLS, NURSERY; CLINICAL TRIALS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Beaver PCh, Jung RC, Cupp EW. Parasitología Clínica. 2ed. Barcelona: Salvat;1986;p. 52-6.
2. Wolfe MS. Giardiasis. En: Goldsmith R, Heyneman D. Parasitología y Medicina Tropical 1ed. México, DF: El Manual Moderno;1995:314-22.
3. Joyce T, McGuigan KG, Elmore MM, Conroy RM. Prevalence of enteropathogens in stools of rural Maasai children under five years of age in the Maasailand region of Kenyan Rift Valley. East Afr Med J 1996;73:59-62.
4. Benenson AS. Control of communicable diseases. Manual. 16ed. Washington: American Public Health Association;1995; p. 202-4.
5. Levinson W, Jawetz E. Microbiología e inmunología. 2ed. México, DF: El Manual Moderno;1998;p.423-4.
6. Gavert B. Comparative study of the incidence and dissemination of intestinal parasites in child day care centers of the district capital Schwerin. Gesundheitswesen 1998;60:301-6.
7. Botero D, Restrepo M. Parasitosis Humanas. 3ed. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas;1998; p.61-6.
8. Núñez FA. *Giardia lamblia*. En: Llop A, Valdés-Dapena MM, Suazo JL, editores. Microbiología y Parasitología Médicas. T3. Cap. 78. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001. p. 31-8.
9. Tellez A, Morales W, Rivera T, Meyer E, Liura B, Linder E. Prevalence of intestinal parasites in the human population of Leon, Nicaragua. Acta Trop 1997;66:119-25.
10. Núñez FA, Hernández M, Finlay CM. Longitudinal study of giardiasis in three day care centers of Havana City. Acta Trop 1999;73:237-42.
11. Parija SC, Srinivasa H. Viewpoint: The neglect of stool microscopy for intestinal parasites and possible solutions. Trop Med Intern Health 1999;522-4.
12. Wang LC. Improvement in the identification of intestinal parasites by a Concentrated Merthiolate-Iodine-Formaldehyde Technique. J Parasitol 1998;84:457-8.
13. Stenzel DJ, Boreham PLF. *Blastocystis hominis* revisited. Clin Microbiol Rev 1996;9:563-84.
14. Miller RA, Minshew BH. *Blastocystis hominis*: an organism in search of a disease. Rev Infect Dis 1998;10:930-8.
15. Marti H, Koella J. Multiple stool examinations for ova and parasites and rate of false-negative results. J Clin Microbiol 1993;31:3044-5.
16. Ziganshina NKH, Fuzailov IUM. Tinidazole efficacy and tolerance in the treatment of lambliasis (In Russian with English abstract). Med Parazitol Mosk 1991;3:58.
17. Pengsaa K, Sirivichayakul C, Pojjaroen-anant C, Nimmual S, Wisetsing P. Albendazole treatment for *Giardia intestinalis* infections in school children. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1999;30:78-83.
18. Kollaritsch H, Jeschko E, Wiedermann G. Albendazole is highly effective against cutaneous larva migrans but not against *Giardia* infection: results of an open pilot trial in travellers returning from the tropics. Trans R Soc Trop Med Hyg 1993;87:689.
19. Misra PK, Kuman A, Argawal V, Jagota SC. A comparative trial of abendazole versus metronidazole in children with giardiasis. Indian Pediatr 1995;32:779-82.
20. Reynoldson JA, Benhke Jm, Gracey M, Horton RJ, Spargo R, Hopkins RM, et al. Efficacy of albendazole against *Giardia* and hookworm in a remote aboriginal community in the north of Western Australia. Acta Trop 1998;71:27-44.
21. Cooperstock M, Dupont HL, Corrado ML, Fekety R, Murray DM. Evaluation of new antinfective drugs for the treatment of diarrhoea caused by *Giardia lamblia*. Clin Infect Dis 1992;15(suppl 1):244-8.

Recibido: 6 de marzo de 2003. Aprobado: 28 de abril de 2003.
Dra. Daimary Mendoza. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Apartado 601, Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba.
Correo electrónico: ciipk@ipk.sld.cu