

**UNIVERSITAT
DE
VALÈNCIA**



**FACULTAT
DE
FARMÀCIA**

TESIS DOCTORAL

PROGRAMA DE DOCTORADO "PARASITOLÒGIA HUMANA Y ANIMAL"

DEPARTAMENT DE FARMÀCIA I

TECNOLOGIA FARMACÈUTICA I PARASITOLOGIA

FACULTAT DE FARMÀCIA, UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

**ESTUDIO EPIDEMIOLÒGIC DE LAS
PARASITOSIS INTESTINALES DETECTADAS EN LA POBLACI3N INFANTIL DE
RUANDA
(ÁFRICA CENTRAL)**



por

MARÍA JOSÉ IRISARRI GUTIÉRREZ

Directores

Dr. JOSÉ GUILLERMO ESTEBAN SANCHÍS

Dra. CARLA MUÑOZ ANTOLÍ-CANDELA

Dr. FERNANDO JORGE BORNAY LLINARES

**UNIVERSITAT
DE
VALÈNCIA**



**FACULTAT
DE
FARMÀCIA**

TESIS DOCTORAL

**PROGRAMA DE DOCTORADO “PARASITOLÒGIA HUMANA Y ANIMAL”
DEPARTAMENT DE FARMÀCIA I
TECNOLOGIA FARMACÈUTICA I PARASITOLOGIA
FACULTAT DE FARMÀCIA, UNIVERSITAT DE VALÈNCIA**

**ESTUDIO EPIDEMIOLÒGICO DE LAS
PARASITOSIS INTESTINALES DETECTADAS EN LA
POBLACIÓN INFANTIL DE RUANDA
(ÁFRICA CENTRAL)**

por

MARÍA JOSÉ IRISARRI GUTIÉRREZ

Directores

Dr. JOSÉ GUILLERMO ESTEBAN SANCHÍS

Profesor Titular de Parasitología
Departament de Farmàcia i
Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia
Facultat de Farmàcia, Universitat de València

Dra. CARLA MUÑOZ ANTOLÍ-CANDELA

Profesor Titular de Parasitología
Departament de Farmàcia i
Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia
Facultat de Farmàcia, Universitat de València

Dr. FERNANDO JORGE BORNAY LLINARES

Profesor Contratado Doctor de Parasitología
Área de Parasitología del Departamento de Agroquímica y Medioambiente
Facultad de Farmacia, Universidad Miguel Hernández de Elche

Valencia, 2016

DEPARTAMENT DE FARMÀCIA I TECNOLOGIA FARMACÈUTICA I PARASITOLOGIA

Los abajo firmantes Dr. JOSÉ GUILLERMO ESTEBAN SANCHÍS y Dra. CARLA MUÑOZ ANTOLÍ-CANDELA, Profesores Titulares del Área de Parasitología del Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de València, y Dr. FERNANDO JORGE BORNAY LLINARES, Profesor Contratado Doctor del Área de Parasitología del Departamento de Agroquímica y Medioambiente de la Facultad de Farmacia de la Universidad Miguel Hernández de Elche, por la presente:

CERTIFICAN: que Doña MARÍA JOSÉ IRISARRI GUTIÉRREZ ha realizado íntegramente la Tesis Doctoral titulada “ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LAS PARASITOSIS INTESTINALES DETECTADAS EN LA POBLACIÓN INFANTIL DE RUANDA (ÁFRICA CENTRAL)” en Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de València con el fin de optar al grado de Doctor en Farmacia.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firman la presente en Valencia a nueve de julio de dos mil doce.

Fdo.:Dr. J.G. Esteban

Fdo.:Dra. C. Muñoz

Fdo.: Dr. F.J. Bornay

*La primera vez que escuché hablar del “mal de África”
yo no había viajado más allá de la cordillera del Atlas.
Me explicaron que consistía en una extraña enfermedad del corazón
que te impulsa, cuando ya has pisado las tierras subsaharianas,
a volver allí una y otra vez. Y fui. Y contraí la enfermedad.*

JAVIER REVERTE

IRISARRI GUTIÉRREZ, MARÍA JOSÉ, 2016.- “ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LAS PARASITOSIS INTESTINALES DETECTADAS EN LA POBLACIÓN INFANTIL DE RUANDA (ÁFRICA CENTRAL)” TESIS DOCTORAL (DIRS. DR. J.G. ESTEBAN, DRA. C. MUÑOZ ANTOLÍ-CANDELA Y F. J. BORNAY LLINARES), FACULTAT DE FARMÀCIA, UNIVERSITAT DE VALÈNCIA, VALENCIA 267pp.

La presente Tesis Doctoral tiene por objetivo conocer el estado del parasitismo intestinal y su correlación con diferentes factores intrínsecos y extrínsecos en la población infantil ruandesa. Para ello, se ha estudiado un total de 674 escolares (330 niños y 344 niñas) del Colegio Nemba I (Nemba, Gakenke, Provincia Norte de Ruanda), con edades comprendidas entre los 6 y 18 años de edad. Se ha detectado un espectro parasitario de 17 especies (10 de protozoos y 7 de helmintos), con una prevalencia total de parasitación del 94,9% (94,5% para protozoos y 18,1% para helmintos). Las especies más prevalentes fueron: *Endolimax nana* (91,1%), *Blastocystis hominis* (89,9%) y *Entamoeba coli* (57,2%). Se ha detectado un predominio del multiparasitismo (83,8%). La eosinofilia y la anemia han resultado poco frecuentes en la población estudiada, aunque la desnutrición se ha observado especialmente sobre la forma de desmedro. Los resultados parasitológicos obtenidos han sido analizados en función del sexo, grupos de edad, grado escolar, eosinofilia, anemia, tipo de desnutrición y diferentes variables socioeconómicas e higienico-sanitarias, obteniéndose diferencias estadísticamente significativas en algunos de estos factores. Además, se ha aportado datos, con técnicas moleculares, sobre el “complejo *Entamoeba*” detectándose mayor prevalencia de *Entamoeba histolytica* que de *Entamoeba dispar*. Los resultados obtenidos han sido contrastados con la bibliografía existente hasta el momento en población infantil ruandesa y también en países fronterizos. El estudio llevado a cabo permite resaltar la eficacia de las campañas infantiles de desparasitación helmíntica llevadas a cabo por el gobierno de Ruanda, además de las estrictas leyes que hacen obligatorio el uso del calzado. Estos resultados permiten, además, plantear estrategias de intervención en Ruanda que impulsen programas de educación sanitaria y la mejoría de la calidad de vida de la población en general, y de la población infantil en particular.

PALABRAS CLAVE

Enteroparásitos, protozoos, helmintos, prevalencia, eosinofilia, anemia, desnutrición, factores epidemiológicos, población infantil, Nemba, Gakenke, Ruanda, África.

IRISARRI GUTIÉRREZ, MARÍA JOSÉ, 2016.- “ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DAS PARASIToses INTESTINAIS DETETADAS NA POPULAÇÃO INFANTIL DE RUANDA (ÁFRICA CENTRAL)” TESE DOUTORAL (DIRS. DR. J.G. ESTEBAN, DRA. C. MUÑOZ ANTOLÍ-CANDELA Y F. J. BORNAY LLINARES), FACULTAT DE FARMÀCIA, UNIVERSITAT DE VALÈNCIA, VALENCIA 267pp.

A presente Tese Doutoral tem por objetivo conhecer o estado do parasitismo intestinal e a sua correlação com diferentes fatores intrínsecos e extrínsecos na população infantil ruandesa. Estudou-se um total de 674 escolares (330 meninos e 344 meninas) do Colégio Nemba I (Nemba, Gakenke, Província Norte de Ruanda), com idades compreendidas entre os 6 e 18 anos de idade. Encontrou-se um espectro parasitário de 17 espécies (10 de protozoários e 7 de helmintos), com uma prevalência total de parasitação de 94,9% (94,5% para protozoários e 18,1% para helmintos). As espécies mais prevalentes foram *Endolimax nana* (91,1%), *Blastocystis hominis* (89,9%) e *Entamoeba coli* (57,2%). Também houve um predomínio do multiparasitismo (83,8%). A eosinofilia e a anemia resultaram pouco frequentes na população estudada, porém a desnutrição observou-se principalmente sob a forma de baixa estatura. Os resultados parasitológicos obtidos foram analisados em função do sexo, grupos de idade, eosinofilia, anemia, tipo de desnutrição e diferentes variáveis socioeconômicas e higiénico-sanitárias, obtendo-se diferenças estatisticamente significativas em alguns destes fatores. Além disso, mostram-se também dados obtidos a partir de técnicas moleculares sobre o “complexo *Entamoeba*”, existindo uma maior prevalência de *Entamoeba histolytica* que de *Entamoeba dispar*. Os resultados obtidos foram contrastados com a bibliografia existente na população infantil ruandesa e também nos países fronteiriços. O presente estudo permite ressaltar a eficácia das campanhas de desparasitação infantil efetuadas pelo governo de Ruanda, além das estritas leis que fazem obrigatório o uso do calçado no país. Estes resultados permitem ao mesmo tempo, estabelecer estratégias de intervenção em Ruanda que impulem programas de educação sanitária e melhoria da qualidade de vida da população no geral, e da população infantil em particular.

PALAVRAS CHAVE

Enteroparasitas, protozoários, helmintos, prevalência, eosinofilia, anemia, desnutrição, fatores epidemiológicos, população infantil, Nemba, Gakenke, Ruanda, África.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	19
INTRODUÇÃO	25
OBJETIVOS	37
CAPÍTULO PRIMERO: MATERIAL	43
1.- MATERIAL	45
1.1.- PROCEDENCIA DEL MATERIAL ANALIZADO: RUANDA	45
1.1.1.- ZONA DE ESTUDIO: SECTOR DE NEMBA.....	51
1.2.- POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO	55
CAPÍTULO SEGUNDO: MÉTODOS Y TÉCNICAS	57
2.- MÉTODOS Y TÉCNICAS.....	59
2.1.- CONSIDERACIONES GENERALES	59
2.1.1.- APROBACIÓN POR LOS ORGANISMOS COMPETENTES	59
2.1.2.- INFORMACIÓN DE LA NATURALEZA DEL ESTUDIO	59
2.1.3.- RECOLECCIÓN DE MUESTRAS Y OBTENCIÓN DE DATOS	60
2.1.4.- ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS	62
2.2.- CONSIDERACIONES PARTICULARES	64
2.2.1.- DE ÍNDOLE ETIOLÓGICO	64
2.2.1.1.- TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE HECES	
EN EL PAÍS DE ORIGEN	64
2.2.1.1.1.- PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE HECES	65
A) TÉCNICA DE KATO-KATZ	65

2.2.1.1.2.- FIJACIÓN DE LAS MUESTRAS DE HECES	67
2.2.1.1.3.- TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS DE HECES	67
2.2.1.2.- LAS MUESTRAS DE HECES EN LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA	67
2.2.1.2.1.- PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE HECES	68
A) VISIÓN DIRECTA	68
B) TÉCNICA DEL FORMOL-ACETATO DE ETILO MODIFICADO.....	69
C) TÉCNICA DEL ZIEHL-NEELSEN MODIFICADO	70
2.2.2.- DE ÍNDOLE MOLECULAR.....	71
2.2.2.1.- ADECUACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	71
2.2.2.2.- TÉCNICAS APLICADAS.....	72
2.2.2.2.1.- REACCIÓN DE LA CADENA DE LA POLIMERASA	72
2.2.2.2.2.- ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA.....	73
2.2.3.- DE ÍNDOLE ESTADÍSTICO	75
2.2.3.1.- BASE DE DATOS Y TABULACIÓN DE RESULTADOS	75
2.2.3.2.- METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO	75
2.2.3.2.1.- ESTADÍSTICA.....	76
A) ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.....	76
B) ESTADÍSTICA INFERENCIAL	77
B.1.) PRUEBA DE CHI CUADRADO (χ^2)	78
B.2.) ODDS RATIO	80
2.2.4.- DE ÍNDOLE NUTRICIONAL.....	82
2.2.4.1.- OBTENCIÓN DE DATOS EN EL COLEGIO NEMBA I.....	82
2.2.4.1.1.- MEDICIÓN DE LA ALTURA DE LOS ESCOLARES	82
2.2.4.1.2.- MEDICIÓN DEL PESO DE LOS ESCOLARES	83
2.2.4.2.- MANEJO DE LOS DATOS NUTRICIONALES.....	83

2.2.4.2.1.- CÁLCULOS NUTRICIONALES	84
2.2.4.2.2.- POBLACIÓN DE REFERENCIA	84
2.2.4.2.3.- ÍNDICES ANTROPOMÉTRICOS DEL ESTUDIO	85
A) TALLA PARA LA EDAD (T/E)	86
B) ÍNDICE DE MASA CORPORAL PARA LA EDAD (IMC/E).....	87
C) PESO PARA LA EDAD (P/E).....	88
2.2.5.- DE ÍNDOLE HEMÁTICO	89
CAPÍTULO TERCERO: RESULTADOS	91
3.-RESULTADOS	93
3.1.- EN RELACIÓN AL ESPECTRO PARASITARIO INTESTINAL Y LAS PREVALENCIAS DE PARASITACIÓN	94
3.1.1.- POR SEXO	99
3.1.2.- POR GRUPOS DE EDAD	100
3.1.3.- POR GRADO ESCOLAR.....	101
3.2.- EN RELACIÓN AL MULTIPARASITISMO	104
3.3.- EN RELACIÓN A LAS ASOCIACIONES ENTRE ESPECIES PARASITAS...	106
3.4.- EN RELACIÓN A LAS INTENSIDADES DE PARASITACIÓN	107
3.4.1.- POR SEXO	109
3.4.2.- POR GRUPOS DE EDAD	110
3.4.3.- POR GRADO ESCOLAR.....	111
3.5- EN RELACIÓN A LA EOSINOFILIA	112
3.5.1.- POR SEXO, GRUPOS DE EDAD Y GRADO ESCOLAR.....	112
3.5.2.- POR ESPECIE PARASITA.....	112
3.5.2.1.- MEDIANTE PREVALENCIA DE PARASITACIÓN	113

3.5.4.2.- MEDIANTE INTENSIDAD PARASITARIA.....	114
3.5.5.- GRAVEDAD DE LA EOSINOFILIA	115
3.6.- EN RELACIÓN A LA ANEMIA	116
3.6.1.- POR SEXO, GRUPOS DE EDAD Y GRADO ESCOLAR.....	117
3.6.2.- POR ESPECIE PARASITA.....	117
3.6.2.1.- MEDIANTE PREVALENCIA DE PARASITACIÓN	118
3.6.2.2.- MEDIANTE INTENSIDAD PARASITARIA.....	119
3.7.- EN RELACIÓN AL ESTADO NUTRICIONAL.....	119
3.7.1.- ESTADO NUTRICIONAL GENERAL.....	120
3.7.1.1.- VALORACIÓN Y ANALISIS RESPECTO DE LA POBLACIÓN DE REFERENCIA	122
3.7.1.2.- POR SEXO Y COMPARACIÓN RESPECTO DE LA POBLACIÓN DE REFERENCIA.....	124
3.7.1.3.- POR GRUPOS DE EDAD.....	127
3.7.2.-ESTADO NUTRICIONAL EN DETALLE	129
3.7.3.- ESTADO NUTRICIONAL Y PARASITISMO INTESTINAL.....	129
3.7.3.1.- MEDIANTE PREVALENCIA DE PARASITACIÓN	130
3.7.3.2.- MEDIANTE INTENSIDAD PARASITARIA.....	132
3.8.- EN RELACIÓN A LOS FACTORES EXTRÍNSECOS	134
3.8.1.- DESCRIPCIÓN GENERAL DE LAS CONDICIONES SOCIOECONOMICAS..	135
3.8.1.1.- CONDICIONES FAMILIARES	135
3.8.1.2.- CONDICIONES DE VIVIENDA.....	138
3.8.1.3.- ELIMINACIÓN DE EXCRETAS.....	139
3.8.1.4.- AGUA DE CONSUMO	139
3.8.1.5.- CONDICIONES ALIMENTARIAS	140
3.8.1.6.- HIGIENE Y CUIDADOS PERSONALES	140

3.8.2.- EN RELACIÓN AL PARASITISMO INTESTINAL	141
3.8.2.1- ANÁLISIS LOGISTICO UNIVARIANTE	142
A) CONDICIONES FAMILIARES	142
B) CONDICIONES DE VIVIENDA	143
C) ELIMINACIÓN DE EXCRETAS.....	151
D) AGUA DE CONSUMO	151
E) CONDICIONES ALIMENTARIAS	152
F) HIGIENE Y CUIDADOS PERSONALES	155
3.8.2.2.- ANÁLISIS LOGISTICO MULTIPLE.....	156
3.9.- EN RELACIÓN AL ANALISIS MOLECULAR	163
CAPÍTULO CUARTO: DISCUSIÓN	165
4.-DISCUSIÓN	165
4.1.- EN RELACIÓN A OTROS ESTUDIOS EN RUANDA.....	167
4.1.1.- EN RELACIÓN AL ESPECTRO PARASITARIO INTESTINAL	
Y LAS PREVALENCIAS DE PARASITACIÓN	167
4.1.1.1.- EN RELACIÓN AL SEXO	173
4.1.1.2.- EN RELACIÓN A GRUPOS DE EDAD	173
4.1.1.3.- EN RELACIÓN AL GRADO ESCOLAR	176
4.1.2.- EN RELACIÓN AL MULTIPARASITISMO.....	176
4.1.3.- EN RELACIÓN A LAS ASOCIACIONES ENTRE	
ESPECIES PARASITAS.....	177
4.1.4.- EN RELACIÓN A LAS INTENSIDADES DE PARASITACIÓN	177
4.1.5.- EN RELACIÓN A LA EOSINOFILIA.....	179
4.1.6.- EN RELACIÓN A LA ANEMIA	179
4.1.7.- EN RELACIÓN AL ESTADO NUTRICIONAL.....	181

4.1.8.- EN RELACIÓN A LOS FACTORES EXTRÍNECOS.....	185
4.1.9.- EN RELACIÓN AL ANÁLISIS MOLECULAR	192
4.2.- EN RELACIÓN A OTROS ESTUDIOS	
EN OTROS ESCENARIOS PRÓXIMOS	193
4.2.1- EN RELACIÓN AL ESPECTRO PARASITARIO INTESTINAL	
Y LAS PREVALENCIAS DE PARASITACIÓN	194
A) UGANDA.....	194
A.1.) EN RELACIÓN AL SEXO.....	196
A.2.) EN RELACIÓN A LA EDAD.....	198
A.3.) EN RELACIÓN AL GRADO ESCOLAR	199
B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO.....	199
B.1.) EN RELACIÓN AL SEXO.....	201
B.2.) EN RELACIÓN A LA EDAD.....	202
B.3.) EN RELACIÓN AL GRADO ESCOLAR	202
C) BURUNDI	202
D) TANZANIA	203
D.1.) EN RELACIÓN AL SEXO	205
D.2.) EN RELACIÓN A GRUPOS DE EDAD	207
D.3.) EN RELACIÓN AL GRADO ESCOLAR	209
4.2.2 .- EN RELACIÓN AL MULTIPARASITISMO	210
A) UGANDA.....	210
B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO.....	210
C) BURUNDI	211
D) TANZANIA	211

4.2.3.- EN RELACIÓN A LAS ASOCIACIONES	
ENTRE ESPECIES PARASITAS	211
A) UGANDA.....	212
B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO.....	212
C) BURUNDI	212
D) TANZANIA	212
4.2.4.- EN RELACIÓN A LAS INTENSIDADES DE PARASITACIÓN	213
A) UGANDA.....	213
B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO.....	214
C) BURUNDI	214
D) TANZANIA	214
4.2.5.- EN RELACIÓN A LA EOSINOFILIA	215
A) UGANDA.....	215
B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO.....	215
C) BURUNDI	216
E) TANZANIA.....	216
4.2.6.- EN RELACIÓN A LA ANEMIA	216
A) UGANDA.....	216
B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO.....	218
C) BURUNDI	219
D) TANZANIA	220
4.2.7.- EN RELACIÓN AL ESTADO NUTRICIONAL.....	222
A) UGANDA.....	222
B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO.....	224
C) BURUNDI	225

D) TANZANIA	226
4.2.8.- EN RELACIÓN A LOS FACTORES EXTRÍNSECOS.....	229
A) UGANDA.....	229
B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO.....	229
C) BURUNDI	229
D) TANZANIA	230
4.2.9.- EN RELACIÓN AL ANÁLISIS MOLECULAR	231
CONCLUSIONES/ CONCLUSÕES.....	233
BIBLIOGRAFÍA	239
ANEXOS	257

AGRADECIMIENTOS

Una vez concluida la presente Tesis Doctoral deseo expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que de alguna manera han contribuido a la realización de este trabajo.

En primer lugar, quiero agradecer al Dr. JOSÉ GUILLERMO ESTEBAN SANCHIS, Profesor Titular del Departament de Biologia Celular i Parasitologia de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de València, que con su profesionalidad en el campo de la coproparasitología, ha sido el responsable desde los tiempos de clases en el “Máster internacional en Enfermedades Parasitarias Tropicales”, de sumergirme en este maravilloso mundo de la coprología y de los parásitos intestinales, área que me cautivó desde que asistí por primera vez a su clase y que me llevó a entrar en contacto con él para realizar el presente trabajo. Le agradezco, también, el hecho de haberme acogido y aceptado en su equipo al inicio de esta Tesis, y le será siempre grata por haber confiado en mí y por haberme apoyado a realizar la Tesis a través del viaje llevado a cabo en Ruanda, lo cual resultó ser una gran experiencia tanto a nivel profesional como personal. Le agradezco todo el apoyo que me ha dado, su paciencia, el tiempo que me ha dedicado y su cariño.

A la Dra. CARLA MUÑOZ ANTOLÍ-CANDELA, Profesora Titular del Departament de Biologia Celular i Parasitologia de la Facultat de Farmacia de la Universitat de València, gran maestra y gran profesional, a quien admiro como mujer en el “mundo de la ciencia” y por la gran persona que es. Agradezco todo su apoyo, sus consejos, sus ánimos, su paciencia, su cariño y esa buena disposición que tiene siempre. Gracias por todo el tiempo dedicado a mí y a este proyecto y también por todos los buenos momentos en ratos libres, como fueron las clases de GAP.

Quiero expresar también mi agradecimiento al Dr. FERNANDO JORGE BORNAY LLINARES, Profesor Contratado Doctor del Área de Parasitología del Departamento de Agroquímica y Medioambiente de la Facultad de Farmacia de la Universidad Miguel Hernández de Elche, por haber confiado en mí desde el principio y por haber hecho posible mi participación en este trabajo. Gracias por todos sus consejos, su apoyo, su paciencia y por todos los buenos momentos pasados en Congresos y como no, en Ruanda. Aunque físicamente hemos estado distantes, siempre ha estado presente.

Agradecimientos

Expresar también mi gratitud a todos los demás Profesores del Departament de Biologia Celular i Parasitologia, de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de València y muy en especial al Dr. RAFAEL TOLEDO NAVARRO, Profesor Titular en este Departamento, por todo el apoyo que me ha dado, especialmente en todos los trabajos presentados en congresos y publicaciones de trabajos.

No puedo dejar de agradecer a todas las personas que colaboraron en este proyecto, especialmente durante la estancia en Ruanda. A la Dra. LUCRECIA ACOSTA SOTO, Profesora Asociada del Área de Parasitología del Departamento de Agroquímica y Medioambiente de la Facultad de Farmacia, de la Universidad Miguel Hernández de Elche, y a la Dra. LUCY ANNE PARKER, Profesora Ayudante Doctor del Departamento de Salud Pública Historia de la Ciencia y Ginecología, de la Universidad Miguel Hernández de Elche, que colaboraron intensamente en este proyecto. Gracias por vuestra ayuda, vuestros consejos y por todo lo vivido en Ruanda. Agradecer también a todo el grupo de voluntarios de la Universidad Miguel Hernández de Elche, que se encontraba en Ruanda en el momento de la estancia, vuestra compañía en los ratos libres, hizo la experiencia de Ruanda más única. Agradecer muy en especial a HYACYNTH NSABO, nuestra traductora oficial en el terreno, sin la cual este trabajo hubiera sido imposible de concretar. Gracias a todo el personal del Hospital de Nemba responsable por la recogida de muestras de sangre y a todo el personal que se encontraba trabajando en el alojamiento y que amenizaban el día a día de la estancia siempre con una sonrisa. Gracias al personal del Colegio Nemba I, funcionarios y profesores que colaboraron en la realización de este trabajo, en especial a XAVIER NGABONZIMA y a HONORÉ BAHORE, por la información otorgada después de la estancia y por su amistad que perdura hasta hoy. Y como no, no podía dejar de agradecer a todos los niños que participaron en el estudio y que con sus sonrisas nos recibían cada vez que entrábamos al colegio.

Un cariñoso agradecimiento a todos los compañeros con los que he coincidido en algún momento de mi estancia en el Departamento. Con algunos de ellos he compartido momentos de arduas tareas experimentales, largas horas al microscopio y momentos de nervios y diversión en Congresos, además de compartir muy buenos momentos dentro y fuera del Departamento, ellos son: Dra. ALBA CORTÉS CARBONELL, Dra. ÁNGELA DE BENEDETTI, Dra. ROSMARY FLORES, Dra. ALICIA GALIANO, Dra. RAQUEL PEIXTO, VIVIAN

LIMA CHAGAS, LUCIA MATEO, Ma. ÁNGELES MARTÍNEZ, SONIA ADAM, RAIMUNDO SEGUÍ, PALOMA PÉREZ, CARLA QUESADA, MARTA REGUERA y RODRIGO MUÑOZ. Ha sido un placer coincidir con vosotros, gracias por vuestro apoyo y por todas las risas.

Un agradecimiento especial a LISSETE RETANA de Costa Rica, por toda su ayuda, especialmente, en lo que fue la parte experimental de Biología Molecular de este trabajo. Gracias por todos los buenos momentos y todos los ánimos, especialmente cuando parecía que todo salía mal.

No puedo olvidarme de los estudiantes de Grado y Máster que pasaron por el laboratorio durante los años de doctorado, gracias por las risas, la compañía y el aprendizaje, ya que enseñando también se aprende. Ellos son: ERNESTO CANDELA, PAULA GÓMEZ, Ma. JESUS RODES, LUCÍA SANCHEZ, Ma. JESÚS VALDÉS, DANE TORRES y ELISA FERNÁNDEZ.

Quiero también hacer un reconocimiento al resto del personal del Departamento, en concreto al Dr. PATRICIO ARTIGAS y al Dr. MESSAOUD KHUOBANNE, por su amabilidad y todos sus consejos. A ARACELI TERRONES, por toda su ayuda a lo largo del trabajo en el laboratorio; y a CLEMENTE BAÑULS, por su auxilio y buena disposición en todos los trámites necesarios para la presentación y defensa de esta Tesis Doctoral.

Mi mayor agradecimiento es para mi familia, en especial a mis padres, FERNANDO y ROSARIO, y a mis hermanos, LUIS y EDUARDO, a quienes al principio “eso de hacer un Doctorado” les sonaba un poco raro pero que aun así, a ciegas, me apoyaron. Gracias por vuestro apoyo desde siempre, con vosotros aprendí a perseguir siempre los sueños y este, va por vosotros.

No puedo dejar de agradecer a todos mis amigos, quienes desde cualquier rincón del mundo han estado siempre presentes durante estos años de Tesis. En especial, quiero agradecer a mis grandes amigas SOFIA BANZATTI y LUNA MÚRIAS, por su apoyo tanto en las buenas como en las malas; a todos mis amigos de las clases de danza africana, con quienes durante dos años he podido desconectar de agobios, reír mucho y sentir el continente africano más cerca, en especial, a ASSO MBAYE mi profesor de esas clases tan divertidas y a SAMBA SALL por todo el apoyo, los ánimos, las risas y por toda la luz que me ha dado; a todos mis amigos de la estancia en Mozambique, el Dr. EDY

Agradecimientos

NACARAPA, Dr. SANTOS, JOANA MANHIQUE, ROSARIO FENOSSE, JOAO CUIANE, PAULO ERNESTO, HELMA DAVUCA, ESTEVAO MACHAVA y las Hermanas del Hospital Carmelo do Chokwe, que estuvieron presentes en los últimos momentos de la Tesis, con quienes aprendí mucho y vi la Parasitología en el día a día de un hospital africano; y a SANTIAGO RAMIREZ que ha sido fundamental a nivel personal en esta Tesis, gracias por todo el apoyo, los consejos y la paciencia durante estos años de Doctorado.

Finalmente agradecer a todos los organismos responsables por la financiación del Proyecto y de mi beca predoctoral. A la Consellería de Bienestar Social de la Generalitat Valenciana (Ref. 3055/2009), al Centro de Cooperación al Desarrollo y Voluntariado de la Universidad Miguel Hernández de Elche y al programa de becas predoctorales de la CAPES “Ciencias sin Fronteras”, del gobierno brasileño.

Al Dr. DIEGO TORRÚS y a la Sociedad Española de Medicina Tropical (SEMTSI), por la beca SEMTSI-GSK 2015, la cual permitió la realización de una estancia de tres meses en el Hospital Carmelo de Chokwe, en Mozambique.

INTRODUÇÃO

Dentro das doenças infecciosas responsáveis pelo 25% da mortalidade anual (MORENS *et al.*, 2004), estão as doenças parasitárias que afetam principalmente a países em vias de desenvolvimento e baixa renda. Aquelas que afetam o sistema gastrointestinal são extremamente importantes dado a que afetam aproximadamente a 3.500 milhões de pessoas (ADAMU *et al.*, 2006).

Os parasitas intestinais são muito prevalentes em diferentes partes do mundo, de forma que desde tempos pré-históricos têm evoluído com o ser humano, criando-se uma forte e antiga relação que foi iniciada há aproximadamente 10.000 anos (ALUM *et al.*, 2010).

Os parasitas intestinais afetam de forma desproporcional à população mais desfavorecida, como indivíduos em idade infantil, populações de áreas rurais e os bairros mais pobres das cidades. Junto com outros problemas ligados à pobreza, os parasitas intestinais são responsáveis de atraso no desenvolvimento físico e mental das crianças e, a longo prazo, de atraso na produtividade econômica, colaborando com a falta de progresso socioeconómico dos países afetados (SANDOVAL, 2012).

Dado a que afetam especialmente à população mais desfavorecida do mundo, grande parte das parasitoses intestinais se encontram classificadas dentro do grupo de “Doenças Tropicais Negligenciadas”, doenças que recebem pouca atenção, apesar da magnitude e impacto no desenvolvimento económico e na qualidade de vida da população. Estas doenças não formam parte dos interesses e decisões governamentais, nem da pesquisa dos laboratórios e instituições, nem chamam a atenção de organismos financiadores, dado que as pessoas que sofrem estas doenças são pobres e não têm poder de consumo, dando isto lugar a deficiências e deformidades para toda a vida, o que leva a mais discriminação e mais pobreza (W.H.O., 2009).

O dano que causam as doenças parasitárias intestinais na saúde e bem-estar dos indivíduos e das comunidades depende de: as espécies parasitas; a intensidade e o curso da infecção; a natureza das interações entre as espécies parasitas e outras infecções simultâneas; o estado imunológico e nutricional da população; para além de inúmeros fatores socioeconómicos.

Introdução

A pesar de que não há dados concretos sobre os protozoários intestinais, devido à sua distribuição cosmopolita e a falta de obrigatoriedade em declará-las (STERLING & ADAM, 2004), deve-se considerar que aproximadamente 500 milhões de pessoas sofrem amebíase por *Entamoeba histolytica*, 36 milhões desenvolvem amebíase invasiva e como consequência se produzem cerca de 50.000 a 100.000 mortes por ano (STANLEY, 2003; SPEICH *et al.*, 2013). Sabe-se que a maioria dos indivíduos infetados são assintomáticos (portadores saudáveis), os quais atuam como disseminadores do parasita, e sabe-se também que somente um 10% desenvolve a doença (FARTHING *et al.*, 1996; CASTILLO *et al.*, 1998). África e Ásia são os continentes onde a amebíase é um grande problema de saúde pública. Apesar de que dentro do complexo *Entamoeba histolytica/dispar/moshkovskii* é impossível a diferenciação morfológica específica, evidências bioquímicas, imunológicas e genéticas permitem a identificação específica das três espécies no ser humano (DIAMOND & CLARK, 1993; HAGHIGHI *et al.*, 2002; STARK *et al.*, 2008). Entre estas espécies, estudos mostram que unicamente *E. histolytica* é capaz de causar invasão intestinal e doença extra-intestinal (W.H.O., 1997; STANLEY, 2003).

Giardia intestinalis, tem uma incidência de 200 milhões de pessoas infetadas no mundo (SAVIOLI *et al.*, 2006; VAN LIESHOUT & VERWEIJ, 2010; FENG & XIAO, 2011; FLETCHER *et al.*, 2012), e resulta ser um dos primeiros patógenos que infetam a lactantes e crianças menores de 5 anos, especialmente em países que estão em vias de desenvolvimento causando efeitos adversos tanto no crescimento e desenvolvimento, como na aprendizagem (QUIHUI *et al.*, 2010). De qualquer forma, esta protozoose foi abordada geneticamente, detectando-se até 7 genótipos (do A até o G), entre os quais os genótipos A e B são capazes de infetar mamíferos, pelo que deve considerar-se a doença como uma protozoose zoonótica (FRANZEN *et al.*, 2009; JERLSTROM-HULTQVIST *et al.*, 2010), e ao mesmo tempo trata-se da doença parasitaria intestinal mais frequente dos países com alta renda.

Também cabe enfatizar a relevância adquirida nos últimos anos pelos parasitas intestinais patógenos humanos, como o são os coccídeos, cuja incidência tem aumentado especialmente devido ao seu caráter oportunista em pacientes imunodeprimidos (infetados por HIV, transplantados, etc.) e em população infantil,

onde destacam os representantes do género *Cryptosporidium*, o qual a partir de técnicas moleculares se faz a diferenciação de espécies, genótipos e subtipos (FAYER, 2010; HASFIELD *et al.*, 2011; STARK *et al.*, 2011; RYAN & HIJAWI, 2015). A sintomatologia deste parasita produz quadros diarreicos, tanto em pacientes imunocompetentes como imunocomprometidos, contudo, nos imunocompetentes a diarreia costuma ser aguda, porém autolimitante (XIAO *et al.*, 2004; VAN LIESHOUT & VERWEIJ, 2010).

Na maior parte da bibliografia relacionada com as parasitoses intestinais, pouco se pesquisa sobre a presença de *Blastocystis hominis*, e aqueles estudos que o fazem, discutem sobre o seu verdadeiro papel patógeno e a sua associação com um quadro agudo abdominal (TAN *et al.*, 2010; ROBERTS *et al.*, 2011). Atualmente se questiona sobre a heterogeneidade genética, tendo-se designado de 1 até 13 subtipos (STENSVOLD *et al.*, 2007; SOUPPART *et al.*, 2010; ROBERTS *et al.*, 2011; FLETCHER *et al.*, 2012; CLARK *et al.*, 2013). Considerando a relação entre o crescimento infantil e a presença deste parasita, os resultados mostram que existe uma associação significativa entre peso e baixa estatura em crianças com blastocystosis (ERTUG *et al.*, 2007; CLARK *et al.*, 2013). Atualmente, a prevalência em países desenvolvidos pode chegar até 20%, enquanto que em países em desenvolvimento esta prevalência chega até um 95%, sendo o protozoário intestinal mais prevalente (MUÑOZ-ANTOLI *et al.*, 2014).

Além destas espécies, há protozoários comensais que se encontram no intestino humano, tais como *Entamoeba coli*, *E. hartmanni*, *Iodamoeba bütschlii*, *Endolimax nana*, *Chilomastix mesnili*, o *Dientamoeba fragilis*, cuja presença no ser humano pode servir como marcador biológico e de qualidade de vida, visto que podem se transmitir de forma direta (mãos sujas e contato ânus-mão-boca), ou de forma indireta (a partir de alimentos ou águas contaminadas com matéria fecal por falta de saneamento básico), seguindo exatamente a mesma rota de transmissão que as espécies patogênicas (GOMILA *et al.*, 2011).

Em relação aos helmintos, estima-se que aproximadamente um terço da população mundial, fundamentalmente a população infantil, se encontra infetada por estes parasitas. Os vermes intestinais mais frequentes são: *Ascaris lumbricoides*, os ancilostomídeos e *Trichuris trichiura* (ALBONICO *et al.*, 2008; HARHAY *et al.*, 2010). *Ascaris lumbricoides* afeta por volta de 1.000 milhões de pessoas em todo o mundo e

Introdução

Elas são atribuídas 60.000 mortes por ano (BETHONY *et al.*, 2006; BROOKER *et al.*, 2006). Os ancilostomídeos são um grupo de parasitas intestinais, dentro dos quais se incluem as espécies *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*, os quais estima-se que sejam causadores da parasitação de 900 milhões de pessoas e ocasionadores de 65.000 mortes anuais (HOTEZ *et al.*, 2008; KNOPP *et al.*, 2012). E por último, *Tichuris trichiura*, que afeta aproximadamente 500 milhões de pessoas, provocando cerca de 100.000 mortes anuais (BETHONY *et al.*, 2006; BROOKER *et al.*, 2006). Além disso, estes helmintos precisam completar parte do seu ciclo de vida nos solos, pelo que são também denominados como geohelmintos. Não é muito frequente a mortalidade ocasionada por estes parasitas, porém vale destacar a morbidez e os graves efeitos na saúde e no estado nutricional das pessoas parasitadas (HALL *et al.*, 2008).

O estado nutricional de uma pessoa é o equilíbrio entre a ingestão de alimentos e a demanda de nutrientes (WISBAUM, 2011). O termo “má-nutrição” inclui, por um lado, a desnutrição (baixo peso para a idade, baixa estatura para a idade e/ou deficiência de vitaminas e minerais essenciais) e, por outro lado, a nutrição excessiva (sobrepeso e obesidade (CEREZALES, 2009). Cerca de 826 milhões de pessoas de todo o mundo se encontram desnutridas, das quais 25% delas vivem na África Subsaariana, ou seja, a região em vias de desenvolvimento com a maior proporção de pessoas sofrendo fome de forma crônica (F.A.O., 2006). Desde o início dos anos 90, vale dizer que a desnutrição tem aumentado num 20% e é o principal fator de risco subjacente em mais do 28% das mortes que ocorrem nesta parte do continente africano, onde também se estima que um 40% da sua população infantil tenha baixa estatura para a idade (BENSON, 2008). A desnutrição é uma situação que pode estar presente durante todo o ciclo vital da pessoa e cujas consequências podem se arrastar de geração em geração (CEREZALES, 2009). Vários são os fatores causadores da desnutrição infantil, como é a insuficiente ingestão de comida (em quantidade e em qualidade), a falta de atenção adequada com os alimentos, a aparição de doenças infecciosas e a falta de acesso aos alimentos (WISBAUM, 2011) (ver na Figura 1).

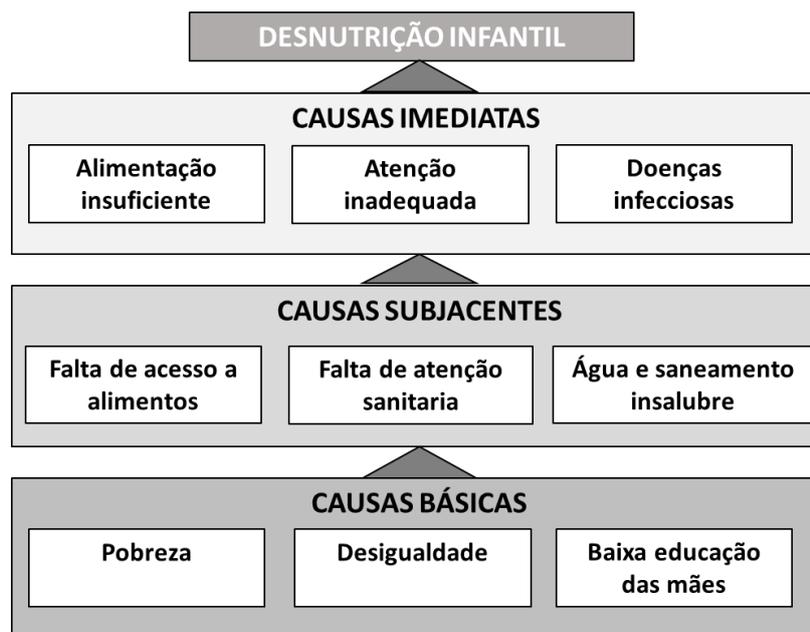


Figura 1.- Diferentes causas da desnutrição infantil (segundo WISBAUM, 2011).

Ao mesmo tempo, a desnutrição é a causa primária de imunodeficiência no mundo (KATONA & KATONA-APTE, 2008), e está associada com a redução de funções do sistema imunológico (CEREZALES, 2009). MASON *et al.* (2003) afirmaram que cerca de 32% da carga mundial de doença poderia ser excluída eliminando a má-nutrição. A desnutrição faz com que a pessoa afetada tenha baixo peso, debilidade e vulnerabilidade a infecções (KATONA & KATONA-APTE, 2008), e como se explica mais detalhadamente a seguir, as infecções, por sua vez, contribuem com a desnutrição, criando-se uma relação sinérgica e formando-se um interminável círculo vicioso (KATONA & KATONA-APTE, 2008; MANGANELLI *et al.*, 2012). Também cabe ressaltar, que tanto a desnutrição, como as parasitoses intestinais, se solapam geograficamente de forma que ambas situações constituem um grave problema de saúde pública em todo o continente africano (YAP *et al.*, 2014).

Há controvérsias em quanto a se as doenças parasitárias intestinais possam ou não influenciar o estado nutricional, de forma que são necessários mais estudos para poder chegar a compreender os mecanismos implicados. No entanto, alguns estudos têm mostrado um impacto benéfico do tratamento anti-parasitário no estado nutricional e crescimento infantil (HLAING *et al.*, 2003; SOLANO *et al.* 2008), enquanto que outros

Introdução

estudos observaram associações entre a desnutrição e o parasitismo intestinal (STEPHENSON, 1993; CARVALHO-COSTA *et al.*, 2007; IGNATIUS *et al.*, 2012). Em relação ao estado nutricional e os parasitas intestinais, sabe-se que estes parasitas produzem uma redução na ingestão de alimento e perda de apetite devido à dor abdominal, às diarreias, náuseas e desconforto que provocam e que ao mesmo tempo levam à perda de peso e à anorexia (STEPHENSON *et al.*, 2000). Na figura 2 se mostra como a infecção por diversos parasitas intestinais pode afetar negativamente o estado nutricional.

De forma mais específica, tem-se relacionado a *E. histolytica* com danos nas mucosas intestinais o que provoca problemas na absorção de nutrientes (STEPHENSON *et al.*, 2000). Além disso, em alguns estudos tem se comprovado que esta espécie afeta aos índices antropométricos de peso para a idade e de estatura para a idade (MONDAL *et al.*, 2006). Em relação a *G. intestinalis* tem-se observado que é capaz de provocar uma má absorção de nutrientes, devido aos danos na parede intestinal, e também, esta espécie tem sido relacionada com baixa estatura para a idade (CARVALHO-COSTA *et al.*, 2007; BOEKE *et al.*, 2010) e com outros índices antropométricos como peso para a estatura e perímetro braquial para a idade em crianças menores de 5 anos (CARVALHO-COSTA *et al.*, 2007). Igualmente, também se tem demonstrado associação significativa entre baixo peso e baixa estatura em crianças infetadas com *B. hominis* (ERTUG *et al.*, 2006).

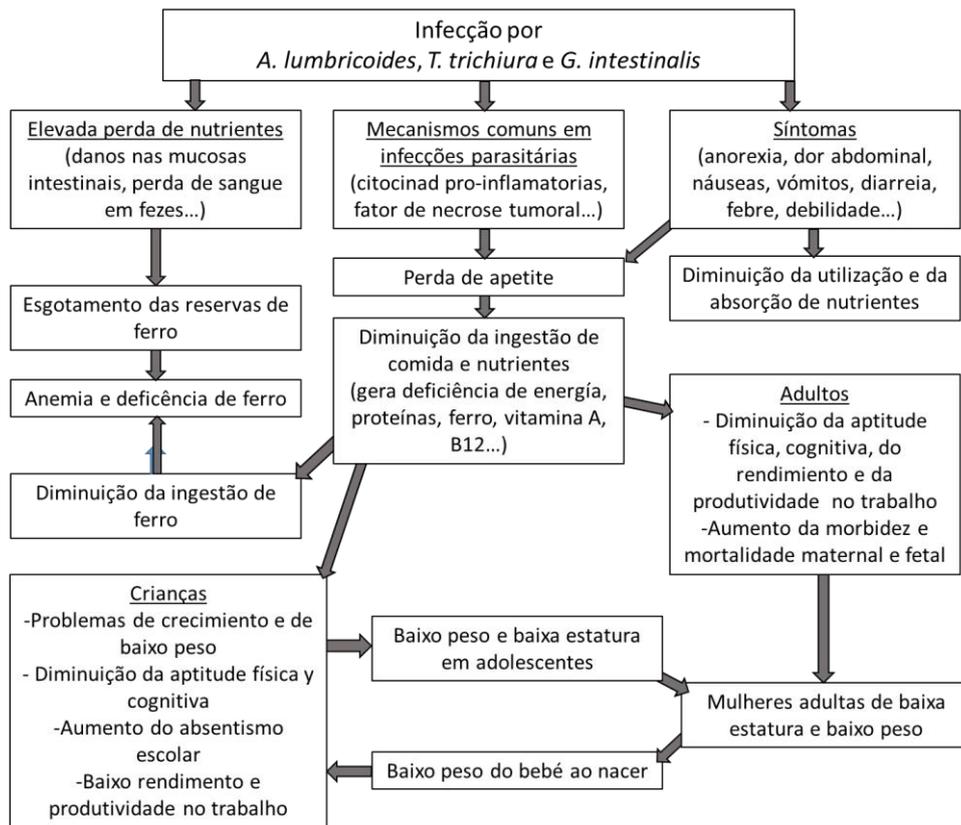


Figura 2.- Influência do parasitismo intestinal de certas espécies no estado nutricional do hospedeiro (segundo STEPHENSON *et al.*, 2000).

Considerando os helmintos, numerosos estudos têm relacionado a *A. lumbricoides* com a desnutrição. Evidências obtidas a partir da experimentação animal têm demonstrado que a infecção por vermes deste gênero provoca diminuição das taxas de crescimento, reduzem o consumo alimentar e produzem danos intestinais que interferem com a absorção adequada de gorduras e proteínas (CROMPTON *et al.*, 2002). No ser humano *A. lumbricoides* pode provocar obstrução intestinal, além de obstrução do fígado e do pâncreas, prejudicando-se desta maneira o estado nutricional do hospedeiro (STEPHENSON *et al.*, 2000). As formas adultas deste parasita, agarram-se às paredes do intestino, provocando danos como encurtamento e diminuição das microvilosidades intestinais e alargamento das criptas intestinais, levando a uma má absorção de nutrientes (TRIPATHY *et al.*, 1972; STEPHENSON *et al.*, 2000; CROMPTON *et al.*, 2002). Segundo um outro estudo, há fortes evidências de que a infecção por *A. lumbricoides* contribui a déficits no crescimento infantil, especialmente em crianças que vivem em regiões onde essa infecção é endêmica, sendo que estes efeitos no

Introdução

crescimento infantil costumam aumentar fundamentalmente quando as infecções são em intensidade alta, apesar de que infecções leves podem contribuir a deficiências no crescimento infantil se o estado nutricional na população estudada é pobre (CROMPTOM *et al.*, 2002). Para esta espécie de helminto também se tem estudado o mecanismo da perda de apetite quando ocorre a parasitação, onde citocinas pro-inflamatórias liberadas como resposta à infecção parece ser que atuem como substâncias que reduzam o apetite (STEPHENSON *et al.*, 2000).

Em relação a *T. trichiura*, e segundo a intensidade de parasitação, pode ocorrer um relativo dano nutricional a partir de reduzidas taxas de crescimento na população infantil, perda de apetite e a conseqüente redução do consumo de alimentos, deficiência de ferro e anemias assim como a perda de proteínas. Em qualquer caso, não há uma clara evidencia sobre as influencias que *T. trichiura* possa ter no desenvolvimento cognitivo infantil. Por último e em relação aos ancilostomídeos se tem observado que a nível nutricional, estas espécies encontram-se principalmente associadas a deficiências de ferro e anemias. Além disso, tem se observado que a deficiência de ferro pode levar a efeitos adversos no crescimento e desenvolvimento infantil, assim como no desempenho escolar, pelo que parece ser que os ancilostomídeos influem, de forma indireta, nestes problemas nutricionais (CROMPTOM *et al.*, 2002).

Além da desnutrição, os parasitas intestinais também têm sido associados com a anemia, a eosinofilia e com fatores epidemiológicos e socioambientais.

A anemia é uma concentração baixa de hemoglobina no sangue. Há vários tipos de anemia e entre elas está a anemia por deficiência de ferro, que é a prevalência nutricional mais prevalente do mundo. Aproximadamente 90% dos que a sofrem vivem em países em vias de desenvolvimento, onde também se encontram as parasitoses intestinais. Dentro das parasitoses intestinais, os helmintos são os que costumam contribuir com a carga de anemia especialmente quando ocorrem infecções por mais de uma espécie parasita, situação bastante comum nestes países (EZEAMAMA *et al.*, 2005). A parasitação pelos ancilostomídeos está claramente ligada à anemia (STOLTZFUS, 1997; EZEAMAMA *et al.*, 2008). O impacto de *A. lumbricoides* na anemia é menos claro do que em outras espécies de helmintos (EZEAMAMA *et al.*, 2008), enquanto que *T. trichiura*

parece estar associada à anemia quando ocorre a presença de outros parasitas intestinais, especialmente os ancilostomídeos (ROBERTSON *et al.*, 1992).

A eosinofilia é a presença anormalmente alta de eosinófilos no sangue, situação que costuma acontecer em estados alérgicos ou quando ocorre alguma parasitação por helmintos (SANTOS *et al.*, 2013). Os eosinófilos são leucócitos que se caracterizam funcionalmente por atuar como células fagocitárias, intervindo no controle das reações de hipersensibilidade tipo I e indiretamente são relacionados com a observação de cristais de Charcot-Leyden nas fezes (BORRÁS *et al.*, 2001). Em conjunto, considera-se que os helmintos intestinais produzem eosinofilia discreta, enquanto que os protozoários não costumam produzi-la, com exceção de *Isoospora belli* e a alguns casos de parasitação por *G. intestinalis* (ROJAS, 2010).

Em relação aos fatores socioambientais, muitos são os estudos que associam infecções tanto de helmintos, como de protozoários, com fatores epidemiológicos de risco, hábitos higiênicos e qualidade de vida (ALELIGN *et al.*, 2015; ECHAZÚ *et al.*, 2015; GEBRU *et al.*, 2015; SIWILA & OLSEN, 2015).

A situação nutricional em Ruanda tem melhorado desde os anos 90, apesar de que continua sendo um grave problema de saúde pública no país, apresentando altas taxas de baixa estatura para a idade (44%) e taxas mais discretas para o baixo peso para a idade (3%) e massa corporal para a idade (11%). As principais causas da insegurança alimentar e da má-nutrição em Ruanda são, principalmente: a pobreza, a alta dependência da agricultura de subsistência e a pouca diversidade dos cultivos. O difícil acesso aos mercados e o baixo nível de educação também contribuem à má-nutrição neste país. Os níveis de anemia têm diminuído nos últimos anos, tendo em 2013 uma prevalência de 38% e na Província Norte uma prevalência de 12% (C.A.A.D.P., 2013).

Os estudos realizados em Ruanda relacionados com as parasitoses intestinais humanas, em comparação a outros países africanos y do mundo, são realmente escassos (HANOTIER & GIGASE, 1981; BOGAERTS *et al.*, 1987; GASANA *et al.*, 2002; DUSHIMIMANA *et al.*, 2008; MUPFASONI *et al.*, 2009; IGNATIUS *et al.*, 2012; IVAN *et al.*, 2013; NIYIZURUGERO *et al.*, 2013; ROTTBECK *et al.*, 2013, DANAQUAH *et al.*, 2014; IGNATIUS *et al.*, 2014; STAUDACHER *et al.*, 2014; HEIMER *et al.*, 2015), pelo que resulta

Introdução

evidente o desconhecimento que há neste país africano sobre as parasitoses intestinais. Tudo isto, levou a realizar este trabalho de Tese Doutoral, o qual pretende contribuir ao conhecimento destes enteroparasitas na população infantil de Nemba (Distrito Gakenke, Província Norte de Ruanda), tendo em conta simultaneamente o estado nutricional e diferentes variáveis epidemiológicas. Desta forma, o presente trabalho poderá permitir aplicar estudos comparativos que sejam realizados no país, ou países vizinhos, ajudando a caracterizar o parasitismo intestinal da população infantil ruandesa, a fim de que se possam estabelecer medidas de controle, prevenção e tratamento.

OBJETIVOS

Las infecciones parasitarias tienen elevadas prevalencias en los países en vías de desarrollo, siendo en ellos un gran problema de salud pública, especialmente en población desfavorecida como lo es la población infantil. No cabe duda de que en este contexto, el componente político es relevante, en el sentido de que es fundamental la posición de los gobiernos, e instituciones de salud para asumir con responsabilidad su papel en la lucha y prevención de estas enfermedades. Por todo ello, se pretende abordar el estudio epidemiológico de las parasitosis intestinales en la población escolar de Nemba, de manera que los objetivos del estudio son enmarcados en objetivos generales y específicos.

Los objetivos generales son:

- el primero objetivo se centra en la población infantil objeto de estudio, al tener como beneficio directo el mejorar su estado de salud, para que a través de un diagnóstico adecuado, puedan aplicarse medidas de control, prevención y tratamiento de las enteroparasitosis que se encuentren;
- el segundo objetivo se ciñe a la colaboración estrecha y directa con el propio Ministerio de Salud ruandés, e indirectamente con las familias de los escolares, para poder actuar en conjunto sobre las medidas oportunas que deban ser tomadas relacionadas con la lucha de estas enfermedades intestinales.

Los objetivos específicos son:

- conocer el espectro de parásitos intestinales en población escolar de Nemba la cual tiene edad comprendida entre los 6 y 18 años, a través de la búsqueda, detección e identificación de las diferentes especies intestinales tanto de protozoos como de helmintos, aportándose las respectivas prevalencias de parasitación, además de su relación con los factores intrínsecos de sexo, edad y grado escolar;

Objetivos

- analizar los multiparasitismos (infecciones de más de una especie parásita por hospedador);
- examinar las asociaciones existentes dentro de las diferentes especies parasitarias a fin de observar si la presencia de una de ellas, se relaciona con la presencia de otra;
- conocer las intensidades de las infecciones provocadas por helmintos, a fin de establecer la gravedad de ellas;
- establecer datos generales de la eosinofilia, de la anemia y del estado nutricional en la población estudiada, así como sus asociaciones con el sexo de los escolares, grupo de edad, grado escolar, prevalencia e intensidad parasitaria;
- analizar los resultados de prevalencias parasitarias y de intensidad de infección con la eosinofilia, con la anemia y con los índices antropométricos, a fin de observar la presencia o no de asociaciones de las parasitosis intestinales con estos factores;
- analizar las prevalencias obtenidas en las infecciones simples y en las coinfecciones desde diferentes variables epidemiológicas, en base a datos obtenidos a partir de encuestas que hacen referencia a condiciones socioeconómicas, a fin de establecer posibles factores de riesgo que faciliten estas infecciones.
- e; identificar molecularmente a nivel específico *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* de entre aquellas consideradas microscópicamente positivas al complejo *E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*.

Para llegar a estos objetivos, la presente Tesis Doctoral se ha dividido en cuatro capítulos.

- en el primer capítulo se describe los materiales utilizados, abordando los datos de la zona de estudio, de la escuela y de la comunidad, además de las características higiénico-sanitarias y socioeconómicas de las poblaciones estudiadas;
- en el segundo capítulo se describe los métodos y técnicas utilizados, en la realización del estudio, referidos tanto en el laboratorio como en el tratamiento y análisis estadístico de los datos;
- en el tercer capítulo se expone los resultados, lo que incluirá el espectro total de parasitación, la prevalencia de parasitación, los multiparasitismos, las intensidades de infección, el análisis de las posibles asociaciones con la eosinofilia, la anemia, el estado nutricional y el estudio de las variables epidemiológicas establecidas;
- en el cuarto, y último capítulo, se procede a la discusión de cada uno de los resultados obtenidos, contrastándolos con los obtenidos por otros autores.

Finalmente, se detallan las conclusiones más relevantes que se han obtenido del trabajo, se incluye una relación detallada de cada una de las referencias empleadas en la redacción del presente trabajo y una sección de anexos, donde se muestra información y documentación extra del estudio.

CAPÍTULO PRIMERO: MATERIAL

1.- MATERIAL

En este capítulo se describe el lugar de procedencia de todo el material que se utiliza como objeto de estudio en el presente trabajo.

1.1.- PROCEDENCIA DEL MATERIAL ANALIZADO: RUANDA

Ruanda es un pequeño país del África Central (Figura 3) sin salida al mar, que se encuentra localizado en las coordenadas 2° 00'S y 30° 00'E. El Norte del país hace frontera con Uganda, el Sur con Burundi, el Oeste con República Democrática del Congo y el Este con Tanzania.



Figura 3.- Localización de Ruanda en el continente africano.

Históricamente, cabe decir que lo que hoy es la República de Ruanda fue habitada inicialmente por pigmeos (cazadores-recolectores) de una etnia llamada Twa. En el siglo XI llegaron los Hutu (agricultores) que se establecieron de forma sedentaria y convivieron con los Twa en paz. En el siglo XVI llegaron del cuerno africano, de la actual Etiopía, la etnia Tutsi, un pueblo ganadero que subyugó a los Hutu y establecieron un sistema feudal encabezado por un Mwami (rey) y una nobleza Tutsi. Los Hutu hacían contrato de servicios por generaciones a cambio de usar las tierras y ganados de los señores feudales Tutsis. A finales del siglo XIX, los alemanes conquistaron el país, y tras la Primera Guerra Mundial, la Sociedad de Naciones entregó el territorio a los Belgas, dónde junto con otros países, Ruanda perteneció al entonces llamado Congo Belga.

Los belgas agudizaron las diferencias étnicas, dónde los Tutsis fueron favorecidos, teniendo acceso a educación al estilo europeo. Al mismo tiempo, los belgas utilizaban a esta etnia para implementar sus leyes, otorgando a los Tutsis algunas posiciones administrativas y militares. En 1926, Bélgica introdujo un sistema de tarjetas para la identificación de etnias. A finales de los años 50, los Hutu comienzan a demandar mejoras para su comunidad, que es mayoritaria, si bien los líderes fueron exterminados. En respuesta, los Hutu perpetraron una masacre que les abre camino al poder; se estima que 100.000 Tutsis fallecieron a manos de los Hutu y que más de 150.000 abandonaron el país. En 1961, se realizan elecciones supervisadas por la ONU, en las cuales los Hutu ganan por abrumadora mayoría, de manera que en 1962, Ruanda consigue independizarse de Bélgica.

Después de varios incidentes e inestabilidades políticas, estos conflictos étnicos culminaron, en 1994, en el “genocidio ruandés” entre Hutus y Tutsis, uno de los más terribles de la historia de la humanidad. En tan solo 100 días, aproximadamente 800.000 personas fueron perseguidas y asesinadas brutalmente a machetazos. Sin embargo, desde el año 2000, el país viene prosperando notablemente ya que el número de turistas que acuden al país, para visitar a los gorilas de montaña, y el Índice de Desarrollo Humano aumentan cada año. Debido a diversos esfuerzos económicos y políticos, Ruanda es uno de los países que más prospera actualmente en África Subsahariana. Sin embargo y a pesar de ello, hay mucho que mejorar, especialmente en lo que es la calidad de vida de su población, ya que 45% de ella vive aún bajo el umbral de la pobreza.

En el centro del país, se localiza la capital Kigali (Figura 4), la cual destaca actualmente de otras ciudades africanas por su gran crecimiento económico además de que fue fundada en 1907 durante el dominio alemán. Kigali está habitada por aproximadamente 851.000 habitantes y está edificada en zona de colinas, con una altitud que varía entre los 1.433 y los 1.645 metros de altura sobre el nivel del mar.



Figura 4.- Fotografía de la capital Ruandesa, Kigali.

En relación a la orografía de Ruanda, con apenas 26.338 Km² de superficie, está repleta de verdes colinas, situación por la cual se le llama también como “el país de las mil colinas”. Las altas y accidentadas tierras ruandesas tienen una altura media de 1.400 metros, siendo que el punto más bajo del país es el río Rusizi, a 950 metros de altura, y el punto más elevado es el Monte Karisimbi, con 4.507 metros de altura a nivel del mar. Debido a la altitud general del país, y a pesar de que se localiza en el ecuador, el clima es predominantemente templado, siendo que las temperaturas medias anuales oscilan entre los 20º y 25ºC. Las lluvias se encuentran concentradas en dos épocas: una, de marzo a mayo; y otra, de octubre a diciembre. Las precipitaciones oscilan en el país entre los 800 mm y los 1.200 mm anuales.

Las montañas dominan todo el Centro y el Oeste del país, siendo esta última zona donde se sitúa la cadena de volcanes Virunga. Esta cadena de volcanes marca frontera con la República Democrática del Congo, además de ser el lugar residencia del “ícono” del país: los gorilas de montaña. A su vez, el Este del país está marcado por relieves menos accidentados, dónde se localizan varios parques nacionales en los que habitan animales típicos de la sábana africana, como los elefantes, las jirafas, los hipopótamos, los rinocerontes, entre muchas otras especies autóctonas.

El sistema hidrográfico del país es dependiente del notorio río Nilo y la mayoría de los ríos que recorren sus tierras nacen en la zona más montañosa. Entre los ríos destaca el río Kagera, el cual desemboca en el renombrado lago Victoria. Además, es un país con muchos lagos, siendo el más grande el lago Kivu, el cual es uno de los lagos más profundos del mundo. Otros lagos importantes en Ruanda son los lagos Burera, Ruhondo, Muhazi e Ihema.

En relación a la población ruandesa, el número de habitantes, en 2013, fue de aproximadamente 12.012.598 habitantes. Tantos habitantes, en un país que territorialmente es tan pequeño, hacen con que Ruanda tenga una densidad poblacional de 419,8 habitantes/Km², una de las más altas de África.

El país está compuesto por las tres etnias, comentadas al principio de este capítulo: los Hutu, que representan un 85% de la población del país; los Tutsi, con un 14%; y por último, los Twa, representada apenas por un 1% de la población. Un 55% de la población es católica, seguida de un 18,4% de protestantes y un 11,6% de musulmanes. Los idiomas oficiales son el Kinyarwanda, el francés y el inglés. Más de la mitad de la población está alfabetizada, aunque menos del 5% ha llegado a la educación secundaria. La esperanza de vida es de 56,6 años para los hombres y 52,6 años para las mujeres. A modo general, Ruanda es considerado un país rural pobre, con 90% de su población dedicada a la agricultura, y un 10% dedicada a la industria minera.

El 98% de la población del país vive en zona rural. Los pequeños terrenos familiares son cultivados, principalmente, con alubias, patatas dulces, sorgo y maíz. La agricultura de subsistencia, contrastada con la alta densidad demográfica, conlleva a la

disminución de la fertilidad del suelo, que junto con problemas históricos hacen con que la pobreza y la desnutrición sea algo endémico en el país.

Administrativamente, Ruanda se divide en 5 provincias, que se subdividen en 30 distritos. Cada distrito se subdivide a su vez en sectores, existiendo un total de 416. Las provincias ruandesas son: Provincia del Norte, Provincia del Este, Provincia del Sur, Provincia del Oeste y por último la provincia de Kigali (Figura 5).



Figura 5.- Localización geográfica de las provincias de Ruanda.

La Provincia de Kigali se subdivide en los distritos: Kicukiro, Gasabo y Nyarugenge.

La Provincia del Oeste, se subdivide en los distritos: Cyangugu, Gasiza, Gisenyi, Kibuye, Ngororero, Nyamasheke y Rutsiro.

La Provincia del Sur se divide en los distritos: Butare, Gatagara, Gikongoro, Gisagara, Gitarama, Kamonyi, Kyanza y Nyaruguru.

Material

A su vez, la Provincia del Este se subdivide en los distritos: Bugesera, Gatsibo, Kayanza, Kibungo, Kirehe, Nyagatare y Rwamagana.

Por último, la Provincia del Norte, provincia del presente estudio, se subdivide en los distritos: Burera, Byumba, Gakenke, Ruhengeri y Rulindo.

El presente trabajo se centró en el distrito Gakenke, ubicado en la provincia del Norte (Figura 6). Este Distrito tiene un área de 704.06 km² y en él habitan aproximadamente 340.904 habitantes. Al igual que para el resto de Ruanda, la mayoría de la población se dedica a la agricultura, principalmente de frijoles, maíz, piña y café. En este distrito existen dos hospitales, 19 centros de salud y 10 puestos de salud. Con respecto a los centros educativos, existen 110 centros de educación primaria y 59 centros de educación secundaria. Este distrito está compuesto por 19 sectores, 97 células y 617 villas.

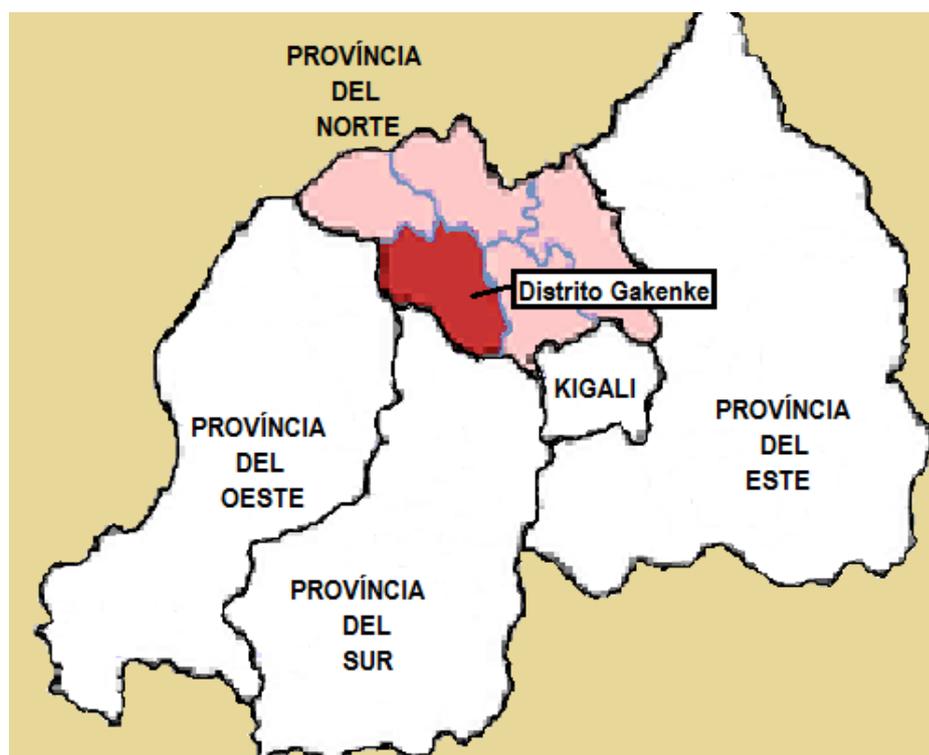


Figura 6.- Localización del Distrito de Gakenke en la Provincia del Norte de Ruanda.

Los 19 sectores que forman parte del distrito de Gakenke son: Busengo, Coko, Cyabingo, Gakenke, Gashenyi, Mugunga, Janja, Kambuga, Karombo, Kivuruga, Mataba, Minazi, Muhondo, Muyongwe, Muzo, Nemba, Ruli, Rusasa y Rushashi.

1.1.1.- ZONA DE ESTUDIO: SECTOR DE NEMBA

El presente estudio se realizó en el Sector Nemba, cuya localización, dentro del Distrito de Gakenke, se muestra en la Figura 7. El Sector Nemba es una zona totalmente rural, que se encuentra subdividida en 4 células: Buranga, Gisozi, Mucaca, y Gahinga. A su vez, estas células se subdividen en villas, siendo un total de 12 en el Sector.



Figura 7.- Localización del Sector Nemba dentro del Distrito Gakenke.

Nemba es un pequeño sector montañoso (Figura 8) que se encuentra a una media de 2.131 metros de altura y cuenta con una población de aproximadamente 14.765 habitantes. Debido a la altitud, las temperaturas medias anuales en la zona

Material

oscilan entre los 16°C y los 29°C, siendo las precipitaciones relativamente abundantes y que varían entre los 1.100mm y los 1.500mm anuales.



Figura 8.- Fotografías del accidentado relieve y del paisaje del Sector de Nemba.

El Sector Nemba cuenta aproximadamente con 3.453 hogares, existiendo una media de 4,27 personas por vivienda. Como en casi todo el país, la mayoría de su población vive de la agricultura de subsistencia, siendo las producciones principales de tomate, patata dulce, frijol, maíz y plátano. De las 3.453 viviendas del sector, el 100% tiene acceso al agua potable y prácticamente todos los hogares tienen acceso a una fuente de agua potable a menos de 500 metros (Figura 9).



Figura 9.- Medios de acceso al agua en el Sector de Nemba.

Predominan las viviendas de adobe, con techo de teja y suelo de tierra (Figura 10). El alumbrado público es prácticamente nulo, así como también lo es el servicio de alcantarillado, por lo que el agua residual corre libremente por las calles y patios.



Figura 10.- Fotografías del tipo de viviendas que predominaban en el Sector de Nemba.

La eliminación de excretas es en su mayoría por medio de letrinas (Figura 11), de manera que el número de letrinas públicas es de 157, mientras que 1.151 viviendas poseen pozos negros.

En relación al acceso a la electricidad no se encontraron datos específicos para el Sector de Nemba. Se estima que en todo el Distrito de Gakenke apenas un 1,98% de la población tenga acceso a la electricidad. En relación a la eliminación de basura, se usa mayoritariamente el tratamiento personal (quema y enterramiento).

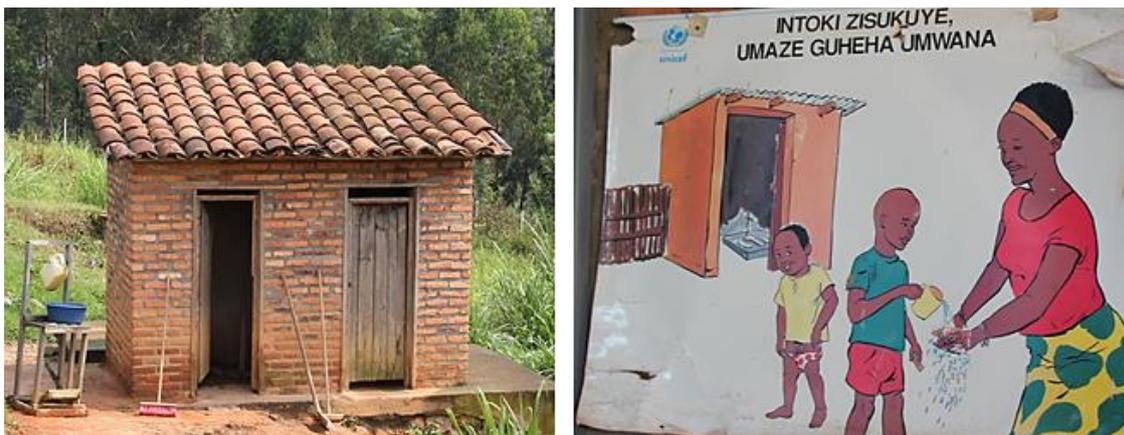


Figura 11.- Letrinas en el Sector de Nemba (izquierda) y folleto informativo en puesto de salud (derecha).

En relación al acceso a la sanidad, el Sector Nemba posee un hospital (el Hospital de Nemba) y un puesto de salud, contando en total con 8 médicos. Tratándose del continente africano, las prevalencias de VIH y de paludismo, son relativamente bajas. De las 14.765 personas que habitan en el sector, el número de personas que presentaban en 2010 VIH fue de 1219 (12,1%). En todo el Distrito de Gakenke apenas 7,8% padecía paludismo, lo cual parece ser que está relacionado con la elevada altitud y el clima templado, los cuales no son propicios para el mosquito transmisor.

De 3.453 viviendas en el Sector, 108 se categorizan en la pobreza extrema, 291 son pobres, 1.480 clase media pobre, 1.060 son de clase media y 291 son viviendas de ricos.

En todo el Sector hay 6 escuelas de primaria, las cuales suman un total de 58 profesores para 3.504 estudiantes matriculados (48,5% escolares del sexo masculino y 51,5% del sexo femenino). Además, el Sector cuenta con 3 escuelas de secundaria, con un total de 60 profesores para 1708 alumnos matriculados (53,1% escolares de sexo masculino y 46,9% del femenino). En todo el sector hay una tasa de analfabetismo del 17%.

1.2.- POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO

La población objeto de estudio asistía a clases en el Colegio Nemba I (Figura 12), el cual se localizaba en el Sector Nemba, en la Célula de Mucaca, en la Villa de Cyahafi. Este colegio es una escuela pública de educación primaria y secundaria y se localiza totalmente en zona rural.



Figura 12.- Fotografías del Colegio Nemba I, a la izquierda la parte externa del colegio y a la derecha las aulas.

El edificio es de ladrillo y las instalaciones cuentan con aulas de tamaño medio, aunque el número de estudiantes se desborda, encontrándose un tanto hacinados. Las aulas y los pasillos son pavimentados, aunque el área de recreo es de suelo de tierra. Los aseos disponibles para los estudiantes cuentan con letrinas.

Juntando a los alumnos de primaria y secundaria, el colegio cuenta con aproximadamente 1.000 alumnos. En este estudio únicamente participaron los escolares que se encontraban cursando la Educación Primaria.

Aproximadamente 712 alumnos se encontraban cursando la Enseñanza Primaria, con una media de 44,5 escolares por clase. De estos escolares que se encontraban cursando la Primaria, 194 de ellos estaban en 2º de Primaria (divididos en 4 clases), 171 en 3º de Primaria (repartidos en 4 clases), 149 cursaban 4º de Primaria (divididos en 3 clases), 130 escolares estudiaban en 5º de Primaria (divididos en 3 clases), mientras que 68 escolares cursaban 6º de Primaria (repartidos en 2 clases). El

Material

grado de 1º de Primaria no se encuentra en el Colegio Nemba I, ya que se encuentra en otra escuela de la zona, junto con lo que es Educación Infantil.

Del total de 712 alumnos de la Enseñanza Primaria, se obtuvieron datos de un total de 688 estudiantes, por lo que hubo una participación del 96,6% de los escolares de Primaria en el estudio, dónde 336 (48,8%) eran del sexo masculino, 347 (50,4%) eran del sexo femenino y 5 (0,7%) tuvieron este dato perdido. Estos escolares que participaron en el estudio (Tabla 1), tenían entre los 6 y los 18 años de edad, habiendo una media de edad total de 11 años y habitaban en las diferentes células del Sector de Nemba (Buranga, Gisozi, Mucaca y Gahinga). Había 293 escolares que se encontraban entre los 6 y 10 años de edad, 270 entre los 11 y 13 años y por último, 113 escolares que tenían entre 14 y 18 años de edad.

Grado de Primaria	SEXO			TOTAL N (%)	EDAD				TOTAL N (%)
	Masculino n (%)	Femenino n (%)	P n (%)		6 a 10 n (%)	11 a 13 n (%)	14 a 18 n (%)	P n (%)	
2º	85 (45,21)	102 (54,26)	1 (0,53)	188 (100)	174 (92,5)	6 (3,19)	1 (0,53)	7 (3,72)	188 (100)
3º	86 (53,09)	76 (46,91)	0 (0)	162 (100)	95 (58,64)	62 (38,27)	3 (1,85)	2 (1,23)	162 (100)
4º	74 (51,03)	69 (47,59)	2 (1,38)	145 (100)	20 (13,79)	104 (71,72)	19 (13,10)	2 (1,38)	145 (100)
5º	61 (48,03)	65 (51,18)	1 (0,79)	127 (100)	4 (3,15)	78 (61,42)	45 (35,43)	0 (0)	127 (100)
6º	30 (45,45)	35 (53,03)	1 (1,52)	66 (100)	0 (0)	20 (30,30)	45 (68,18)	1 (1,52)	66 (100)
Total	336 (48,84)	347 (50,44)	5 (0,73)	688 (100)	293 (42,59)	270 (39,24)	113 (16,42)	12 (1,74)	688 (100)

Tabla 1.- Descripción de la población infantil objeto de estudio según el grado de primaria cursado, por sexo y por edad. P= número de casos perdidos a causa de datos de sexo y/o edad.

CAPÍTULO SEGUNDO: MÉTODOS Y TÉCNICAS

2.- MÉTODOS Y TÉCNICAS

En este capítulo se describe la metodología utilizada, tanto en el trabajo de campo como en el laboratorio. Asimismo, se detalla el análisis estadístico que ha sido aplicado a los datos obtenidos en este estudio descriptivo observacional de tipo transversal.

2.1.- CONSIDERACIONES GENERALES

En este apartado se describe el procedimiento de obtención de las muestras biológicas utilizadas en este estudio.

2.1.1.- APROBACIÓN POR LOS ORGANISMOS COMPETENTES

Para la obtención de muestras fecales y sanguíneas de los escolares del Colegio Nemba I (en el Sector Nemba, Distrito Gakenke, Provincia Norte de Ruanda) fue necesario obtener previamente la autorización de los organismos competentes.

Se solicitó la autorización a las autoridades civiles (Ayuntamiento de Gakenke) y religiosas, (Diócesis de Ruhengeri), responsables de la escuela. Una vez obtenidas y junto con la dirección del Colegio Nemba I, se realizaron charlas informativas con los padres y/o tutores de los alumnos, donde se solicitó su consentimiento para la participación de los escolares en el estudio. Adicionalmente se obtuvo el consentimiento de la Comisión Ética en la Investigación Experimental de la Universidad Miguel Hernández de Elche (REFERENCIA DF-MPA-001-11) (Anexo 1).

2.1.2.- INFORMACIÓN DE LA NATURALEZA DEL ESTUDIO

La metodología empleada para la obtención de las muestras fecales fue la visita escolar clase por clase. En esta visita, se explicó los objetivos del estudio y sus beneficios a los directores y profesores del Colegio.

Dicha visita escolar fue realizada con la ayuda de la Hna. Hyacinthe Nsabo, responsable en traducir los procedimientos a los escolares y profesores, lo cual fue esencial para el comienzo del estudio. En Ruanda el idioma oficial es Kinyarwanda, idioma similar al Swahili, por lo que contar con el auxilio de un intérprete era fundamental.

Con la ayuda del idioma, y de manera sencilla, se pudo explicar a los escolares el fundamento del estudio. Además, se les explicó cómo proceder para realizar la recogida de las muestra de heces y de sangre. La ayuda de la Hna. Hyacinthe fue también fundamental para rellenar con los escolares, en forma de entrevista, las encuestas epidemiológicas.

Como se ha comentado anteriormente, sólo aquellos escolares con consentimiento de los padres y/o tutores fueron incluidos en el presente estudio (Anexo 2). El total de muestras recolectadas, tanto de heces como hematológicas, así como los datos obtenidos por medio de las encuestas epidemiológicas, permitieron realizar un estudio parasitológico, hematológico, nutricional y epidemiológico en la población escolar del Colegio Nemba I.

2.1.3.- RECOLECCIÓN DE MUESTRAS Y OBTENCIÓN DE DATOS

El grupo de trabajo se formó a partir de la colaboración de dos grupos de investigación. Uno de ellos, el grupo de la Universidad Miguel Hernández de Elche (U.M.H.), Alicante, pertenecía al Área de Parasitología del Departamento de Agroquímica y Medio Ambiente, de la Facultad de Farmacia de esta Universidad, y cuyos integrantes eran: el Dr. F. J. Bornay-Llinares y la Dra. L. Acosta Soto; y, la epidemióloga Dra. L.A. Parker, perteneciente esta última al Departamento de Salud Pública Historia de la Ciencia y Ginecología, Facultad de Medicina, de la U.M.H.

El segundo grupo de investigación pertenece a la Universitat de València, y más concretamente al Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia de la Facultat de Farmàcia de esta Universitat, el cual está formado por: Dr. J. G. Esteban, Dra. C. Muñoz Antolí, Dr. R. Toledo y yo misma.

El trabajo de campo, llevado a cabo por mí misma, junto con el Dr. F.J. Bornay-Llinares, la Dra. L. Acosta Soto y la Dra. L.A. Parker, consistió en repartir a cada estudiante un recipiente de plástico estéril de 30 mL de capacidad, que tenía tapa de rosca y cucharilla incorporada para la recogida de heces. Cada uno de los participantes fue identificado por un código, a fin de manejar el procesamiento de las muestras y de sus datos, de manera confidencial.

Una vez los niños regresaban con el bote lleno de muestra fecal, pasaban a realizar la encuesta epidemiológica en la que se recogían datos de edad, sexo, hábitos alimentarios y de higiene personal. Asimismo, en la encuesta epidemiológica se abordó puntos relacionados con las condiciones socioeconómicas en que vivía el escolar, como la profesión del padre y de la madre y las condiciones de vivienda.

En ese momento, cada niño era medido y pesado a fin de obtener los datos en relación a la altura y peso de cada escolar, y que eran registrados también en la encuesta epidemiológica. Una vez pesados y medidos, los escolares pasaban por los médicos enfermeros y técnicos de laboratorio del Hospital de Nemba, que instalaron un pequeño puesto en el Colegio, para proceder a la extracción de sangre. Estas muestras de sangre eran llevadas al Hospital de Nemba dónde fueron centrifugadas y procesadas a fin de obtener los resultados del hemograma de cada escolar. Todos los sueros fueron alicuotados y congelados a -20°C , para realizar un estudio sobre la cisticercosis que será publicado posteriormente a esta Tesis.

Los botes llenos de muestra fecal eran llevados al laboratorio instalado en Nemba, e inmediatamente se les realizaba la técnica de Kato-Katz. El resto de muestra era fijada adecuadamente para su posterior transporte a la Universitat de València.

Todo el proceso comentado anteriormente, es decir, la recogida de muestras de heces, la toma de muestras de sangre, la realización de las encuestas epidemiológicas, y la toma de peso y altura de cada escolar, se ejecutó en el intervalo de un mes y medio entre los meses de agosto y septiembre de 2011.

Al final de la recolección, de un total de 702 niños que cursaban primaria en la escuela se obtuvieron 674 muestras de heces, 660 muestras de sangre, 673 encuestas epidemiológicas y datos de peso y altura de 673 niños (Tabla 2).

Las Figura 13, evidencia la encuesta utilizada con los niños cuyos datos fueron registrados en inglés, idioma con el cual los participantes en el trabajo de campo podían comunicarse con la intérprete.

	SEXO		Total	GRUPOS DE EDAD			Total
	Masculino n (%)	Femenino n (%)		6 a 10 n (%)	11 a 13 n (%)	14 a 18 n (%)	
Muestra de heces	330 (48,96)	344 (51,14)	674	292 (43,78)	267 (40,03)	108 (16,19)	667
Kato-Katz	330 (48,96)	344 (51,14)	674	292 (43,78)	267 (40,03)	108 (16,19)	667
Visión directa y técnica de concentración	328 (49,03)	341 (50,97)	669	289 (43,59)	263 (39,97)	109 (16,44)	661
Muestras de Sangre	320 (48,48)	340 (51,52)	660	283 (43,21)	263 (40,15)	109 (16,64)	655
Hemoglobina	320 (48,48)	340 (51,52)	660	283 (43,21)	263 (40,15)	109 (16,64)	655
Eosinofilos	84 (47,46)	93 (52,54)	177	39 (22,41)	88 (50,57)	47 (27,01)	174
Encuesta	331 (49,18)	342 (50,82)	673	293 (43,54)	269 (39,97)	111 (16,49)	673
Peso y altura	331 (49,18)	342 (50,82)	673	293 (43,54)	269 (39,97)	111 (16,49)	673

Tabla 2.- Muestras y datos recogidos en el estudio por sexo y por grupo de edad.

2.1.4.- ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Como se ha comentado anteriormente, una vez realizada la técnica de Kato-Katz a cada muestra fecal, los botes con las muestras de heces fueron fijados adecuadamente y se guardaron en maletas de plástico polietileno, para su traslado por transporte aéreo a España, para su posterior análisis en el Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia de la Facultat de Farmacia, de la Universitat de Valencia (Valencia, España).

De igual forma, también se transportaron todos los sueros hemáticos refrigerados, las encuestas epidemiológicas y los resultados sanguíneos de los escolares.

	Date:	
	ID CODE:	
Name:		
Sex:		
Age:		
Height (cm):		
Weight (kg):		
Father's occupation:		
Mother's occupation:		

What type of floor does your home have?

Earth / Cement / Other _____

Does the house have electricity?

Yes / No / don't know

Where does your drinking water come from?

Water supply in home / Collect from fountain / Collect from river or puddles / Other _____

Has the water been boiled before you drink it?

Yes / No / Sometimes / don't know

At home, how are feces disposed of?

WC / Private latrine / Shared latrine / Outside / Other _____

Do you have animals at home?

Yes / No / don't know

If yes, what type of animals? _____

If yes, where does your family keep them at night?

Inside the house / Outside / Other _____

How often do you wear shoes?

Always / Most of the time / Not very often / don't know

Do you wear shoes at home?

Yes / No / Sometimes / don't know

	Once a week	Once a month	Once a year	Never	Don't know
How often do you eat meat?					
How often do you eat milk?					
How often do you eat eggs?					
How often do you eat raw vegetables?					
How often do you eat cooked vegetables?					

	Always	Sometimes	Never	Don't know
Do you wash your hands before eating?				
Do you wash your hands after going to the toilet?				
Do you use soap when you wash your hands?				

	Every day	2 or 3 times per week	Once a week	Once a month	Never	Don't know
How often to you wash yourself?						

Do you use soap when you wash yourself?

Always / Sometimes / Never / don't know

Figura 13.- Encuesta epidemiológica llevada a cabo en el Colegio Nemba I (Nemba, Gakenke, Ruanda).

2.2.- CONSIDERACIONES PARTICULARES

En este apartado se describe las técnicas experimentales aplicadas a las muestras biológicas objeto del presente estudio, así como el análisis estadístico que se llevó a cabo con los resultados obtenidos.

2.2.1.- DE ÍNDOLE ETIOLÓGICO

Existen numerosos métodos y técnicas de diagnóstico coproparasitológico por lo que la selección del método apropiado debe hacerse en función del tipo de estudio que se realiza, de los objetivos a alcanzar y de los posibles antecedentes epidemiológicos en la zona de estudio.

Generalmente, en todo estudio coproparasitológico, resulta básico y necesario la recolección de 3 muestras fecales en días alternos para cada participante. Sin embargo, en estudios epidemiológicos poblacionales es complicado llevar a cabo este protocolo, por lo que para el presente trabajo se acepta como adecuado proceder al análisis de una única muestra fecal por participante, teniendo en cuenta que la naturaleza del muestreo puede conllevar a problemas inherentes para el diagnóstico como la posibilidad de:

- encontrar falsos negativos debido a la emisión intermitente de estructuras parasitarias, como suele ocurrir en ciertas especies parásitas intestinales;
- falsos negativos como consecuencia de que los escolares se encuentren en el periodo prepatente, por lo que no existan todavía formas adultas parasitas que permitan la eliminación de estadios evolutivos que puedan ser encontrados durante el diagnóstico microscópico en las muestras fecales;
- y no disponer de las heces de los escolares, cuyos padres decidieron que aludieran al colegio ese día.

2.2.1.1.-TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE HECES EN EL PAÍS DE ORIGEN

Se describe en este apartado todo el tratamiento "*in situ*" llevado a cabo en Ruanda.

2.2.1.1.1.- PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE HECES

Inmediatamente después de la recogida de las muestras de heces y con las heces aún en fresco, se llevó a cabo en el laboratorio de Nemba la técnica de Kato-Katz.

A) TÉCNICA DE KATO-KATZ

La técnica cuantitativa de Kato introducida por KATO & MIURA (1954), fue ampliamente utilizada en programas de control en la década de los 50 en Japón. Sin embargo, no se difundió su conocimiento por el mundo, hasta el año 1966 cuando aparece una publicación en inglés de KOMIYA & KOBAYASHI (1966) con una evaluación de las ventajas y limitaciones de dicho método. En 1968, aparece una publicación de MARTIN & BEAVER (1968) en donde se realiza una evaluación de la técnica y se le introducen tres importantes modificaciones, que consisten en remover las fibras de la muestra mediante un fino tamiz, la diseminación homogénea del frotis y la prevención sobre el aclaramiento de la preparación al determinar el tiempo óptimo para la lectura. Posteriormente KATZ *et al.* (1972) introdujeron una nueva modificación al método, convirtiendo la técnica de gravimétrica a volumétrica y haciendo posible su empleo para trabajos de campo (NÚÑEZ- FERNÁNDEZ *et al.*, 1991).

Así, la técnica de Kato-Katz permite un diagnóstico cualitativo y cuantitativo de infecciones por geohelminthos, determinándose la intensidad de la infección a partir del cálculo del número de huevos por gramo de heces (hgh) para cada especie de helminto.

En este estudio, se utilizó el kit comercial Helm-Test® (Bio-Manguinhos, Rio de Janeiro, Brasil) y se aplicó el protocolo del propio kit para cada muestra aun fresca, antes de fijarla. El protocolo de esta técnica, se detalla brevemente a continuación:

- se coloca sobre papel satinado una pequeña porción de heces sin fijar y sobre ésta, se coloca un tamiz de nylon. Con la ayuda de una espátula de plástico, se raspa el tamiz de nylon, presionando de esta manera las heces contra el papel satinado, para que así se filtren pequeñas partículas de heces junto con los huevos de helmintos, quedando retenidas las partículas más grandes y poco relevantes microscópicamente;

- un molde de plástico, provisto por el kit, se coloca sobre un portaobjetos. Seguidamente, se rellena el orificio de dicho molde con el material fecal tamizado y recogido con la espátula de plástico, hasta que éste orificio esté totalmente relleno, teniendo el cuidado de retirar el exceso de muestra del orificio con la espátula. Con el orificio del molde, se manipula una cantidad exacta de 41.7 mg de heces;
- consecutivamente, se retira el molde de plástico con precaución, de forma que toda la materia fecal quede en el portaobjetos;
- se tomó una tira de papel de celofán embebida en solución de glicerina-verde malaquita, que se colocó sobre la muestra, presionando, para que de tal forma extender homogéneamente la muestra por el portaobjetos;
- inmediatamente después, se realiza la lectura del portaobjetos en el microscopio, para de esta manera evitar la aclaración excesiva de algunos huevos de geohelminintos como los ancilostómidos. La lectura se realiza recorriendo todo el campo de la preparación, contando el número de huevos para cada especie de helmintos;
- se calcula el número de hgh, multiplicando el valor obtenido para cada helminto por 24;

De esta forma, con la obtención del número de huevos por gramo de heces (hgh), se pudo clasificar la severidad de parasitación por geohelminintos en las 3 grandes categorías de infección: leve, moderada y alta (MONTRESOR *et al.* 1998). En la Tabla 3, se muestra los intervalos de huevos reconocidos para cada categoría de intensidad de infección. Dicha clasificación fue la utilizada en este estudio.

Helminto	Intensidad leve (hgh)	Intensidad moderada (hgh)	Intensidad alta (hph)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1 a 4999	5000 a 49999	> 50000
<i>Trichuris trichiura</i>	1 a 999	1000 a 9999	> 10000
Ancilostómidos	1 a 1999	2000 a 3999	> 4000

Tabla 3.- Intensidad de parasitación de los geohelminintos, de acuerdo a la O.M.S. (2002). Hgh: huevos por gramo de heces.

2.2.1.1.2.- FIJACIÓN DE LAS MUESTRAS DE HECES

Una vez realizada la técnica de Kato-Katz, las muestras fecales se fijaron con Formalina al 10%, en la proporción de una parte de heces por cada tres partes de fijador (ASH & ORIHEL, 1987). De esta forma, se pudo conservar de manera inalterada las formas parasitarias susceptibles de ser detectadas en una muestra fecal. La Formalina al 10% se preparó a partir de Formaldehído comercial (40%) cuya dilución se realizó con agua destilada, en la proporción 1:9.

La elección de este fijador se debió a que es económico, fácil de preparar en el trabajo de campo, aparte de que es un fijador compatible con las diferentes técnicas coproparasitológicas practicadas en este trabajo: visión directa, técnica de concentración (técnica difásica), así como con la elaboración de frotis fecales para su posterior tinción mediante la técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

Además, de cada muestra se separó una pequeña alícuota en otros botes de recogida de heces, siendo fijadas con Etanol 80º, para su posterior procesamiento molecular.

2.2.1.1.3.- TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS DE HECES

Las muestras fijadas se empaquetaron convenientemente para ser transportadas vía aérea hasta el Departamento de Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia de la Universitat de Valencia. Para tal fin, se requirió de los permisos sanitarios pertinentes, gestión ya realizada con anterioridad a la expedición.

2.2.1.2.- LAS MUESTRAS DE HECES EN LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Una vez en el laboratorio del Departamento de Parasitología de la Facultat de Farmacia en la Universidad de Valencia, las muestras fijadas fueron procesadas.

Para la detección fecal de protozoos y helmintos se aplicaron diferentes técnicas analíticas complementarias, ya que no existe una única técnica considerada como “gold standard”. La microscopía es tal vez el método más efectivo y ampliamente utilizado, no

olvidando que hay características biológicas de los parásitos que pueden afectar los resultados y la interpretación de los análisis coproparasitológicos (ASH & ORIHIEL, 1987; KAMINSKY *et al.*, 1998).

El microscopio de rutina que se utilizó fue un NIKON modelo SE, equipado con revólver de cuatro objetivos (de 4x, 10x, 40x y 100x aumentos) y dos oculares de 10x aumentos. Las mediciones pertinentes para mejor identificación de las estructuras parasitarias se realizaron con un ocular micrométrico calibrado para todos los objetivos del microscopio. Para fotografiar los parásitos se utilizó máquina fotográfica FUJIFILM modelo FINEPIX JX y también un microscopio NIKON modelo ECLIPSE E400, con dos oculares de 10x aumentos, que lleva conectada una cámara fotográfica NIKON modelo DIGITAL CAMARA DMX 1200C.

2.2.1.2.1.- PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE HECES

A) VISIÓN DIRECTA

La visión directa es una técnica que analiza la muestra fecal sin someterla a procesos químicos, físicos o mecánicos que puedan alterar la morfología estructural parasitaria.

Para esta técnica se utilizaron pipetas Pasteur, láminas porta objetos, láminas cubre objetos (22x22mm), solución salina (0,85%) y solución de Lugol doble.

El protocolo de esta técnica coproparasitológica consiste en:

- agitar cuidadosamente la muestra fecal, para resuspender las estructuras parasitarias y conseguir una distribución uniforme de la muestra en los tubos de transporte, y se extrae directamente un poco de la muestra del tubo con auxilio de una pipeta;
- la muestra extraída se coloca en tandas de dos gotas por lámina portaobjetos, homogenizando una de las gotas con solución salina y otra con solución de Lugol doble. A ambas gotas se les coloca el cubreobjetos;
- la lectura microscópica abarca todo el área delimitada por el cubreobjetos, utilizando cuando necesario el micrómetro ocular para establecer las

dimensiones de los elementos parasitarios encontrados y conseguir su adecuada identificación;

En el presente estudio se analizaron 2 gotas de cada muestra fecal, utilizando los objetivos de 10x y 40x. Cabe destacar que en los protozoos, las formas de trofozoítos se identifican en base a su morfología, tamaño y características del núcleo. También se puede ver las formas quísticas que son identificables, no solo por la morfología y tamaño, sino también por el número de núcleos y la estructura de la cromatina nuclear. Para una mejor visualización de dicha cromatina nuclear, el uso de la solución de Lugol doble es un recurso de gran utilidad.

B) TÉCNICA DEL FORMOL-ACETATO DE ETILO MODIFICADO

Se trata de una técnica de concentración difásica con la cual se extrae las grasas y el material mucoso presente en las heces (RITCHIE, 1948). En la presente Tesis se ha utilizado la técnica modificada por KNIGHT *et al.* (1976).

Los materiales necesarios para la preparación de esta técnica son los mismos que los empleados en la visión directa, añadiendo centrífuga, tubos de centrífuga con tapones de goma, pipetas graduadas, embudos de plástico, gasa estéril, acetato de etilo y solución de Formalina al 10%.

El protocolo de esta técnica, se describe a continuación:

- a una muestra fecal fijada de entre 2 a 3 ml, se adiciona 7 ml de solución Formalina al 10%;
- se tapa herméticamente el tubo, se agita homogenizando y se filtra a través de una doble capa de gasa. A este filtrado se le añade más Formalina al 10% hasta completar el volumen de 7ml, para posteriormente, añadir 3 ml de acetato de etilo; se tapa el tubo y se agita;
- se centrifuga a 1.700 r.p.m. durante 5 minutos; se retira el tubo de la centrífuga y se separa cuidadosamente la interfase de las paredes del tubo con una pipeta, y se decanta todo el sobrenadante quedando el sedimento listo para ser observado microscópicamente, siguiendo la metodología descrita en el apartado de visión directa.

C) TÉCNICA DEL ZIEHL-NEELSEN MODIFICADO

Para el diagnóstico de coccidios fue utilizada la técnica de Ziehl-Neelsen modificado (WHO, 1991).

Los materiales usados fueron: asa de platino, láminas portaobjetos, cubetas, cestillos de tinción, metanol, solución colorante (Carbol-fucsina), solución decolorante (solución alcohólica de ácido clorhídrico al 3%), solución contracolorante (azul de metileno), aceite de inmersión y solución de alcohol-éter.

El protocolo de esta técnica consiste en:

- a partir del sedimento obtenido con la técnica formol-acetato de etilo modificado, se realiza un frotis en un portaobjetos, dejándolo secar a temperatura ambiente de 8 a 10 horas;
- una vez secos estos frotis, una tanda de 10 de ellos eran colocados de forma paralela y en posición vertical en el cestillo de tinción. Seguidamente este cestillo era sumergido en cubeta de tinción conteniendo metanol, durante 3 minutos asegurando así una adecuada fijación;
- Posteriormente el cestillo se sumergía en otra cubeta de tinción con solución carbol-fucsina durante 10 minutos;
- se pasa el cestillo por una cubeta con agua, limpiando el exceso de colorante y luego, en una cubeta con solución alcohol acidificado, el cestillo se sumerge y extrae varias veces, con sumersiones y extracciones rápidas y sucesivas, lo que ayuda a la decoloración por arrastre, para seguidamente, introducir el cestillo en azul de metileno durante un minuto;
- finalmente se sumerge el cestillo en cubeta con agua para lavar. Finalmente, se retiran los portaobjetos con los frotis del cestillo y se dejan secar a temperatura ambiente, para que una vez secos, se proceda a la detección microscópica de posibles ooquistes de coccidios que puedan estar presentes, utilizando el objetivo de 100x con aceite de inmersión.

Los ooquistes de los coccidios aparecen teñidos de color rojo vivo, sobre un fondo azul intenso, sobre el que cabe vislumbrar el tamaño adecuado (de 4 a 7 μ m), el intenso color rojo y la refracción del contenido de los ooquistes.

2.2.2.- DE ÍNDOLE MOLECULAR

Paralelamente al análisis coproparasitológico, nutricional y epidemiológico, se realizó la caracterización molecular de *E. histolytica*/*E. dispar*. Se aplicó técnicas de biología molecular a las alícuotas de muestra fecal fijadas con etanol de 80° en Ruanda.

2.2.2.1.- ADECUACIÓN DE LAS MUESTRAS

Como se ha comentado anteriormente, en el laboratorio provisional de la Universidad Miguel Hernández de Elche en Nemba, de cada muestra fecal se tomó una pequeña alícuota que se fijó con etanol 80° para poder aplicar las técnicas de biología molecular.

Posteriormente, una vez transportadas al Departamento de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universitat de València, se les aplicó a estas muestras el procedimiento de lavado, siguiendo el protocolo que se muestra a continuación:

- se tomaron entre 300-400 µl de muestra de heces, que fueron colocadas en tubos de 10 mL;
- a este tubo, se le añade 20 mL de EDTA, el cual tenía agregado 1mL de PBS al 1%;
- se lleva a centrifuga a 1.700 r.p.m. durante 15 minutos y después se descarta el sobrenadante;
- se le añade al sedimento 1mL de la solución de EDTA con PBS al 1% y se centrifuga a 1.700 rpm durante 15 minutos más y se descarta el sobrenadante. Se repitió este mismo paso, dos veces más;
- a continuación, se descarta el sobrenadante de la última centrifugación y se congela la muestra a -20°C, para el siguiente paso.

En el siguiente paso de adecuación de las muestras, se siguió el protocolo de extracción de ADN de muestras de heces del Kit QIAamp DNA Stool (QIAGEN®) (NICHOLS et al. 2006; PIRESTANI *et al.*, 2008).

2.2.2.2.- TÉCNICAS APLICADAS

A continuación, se describe las técnicas aplicadas de índole molecular.

2.2.2.2.1.- REACCIÓN DE LA CADENA DE LA POLIMERASA

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es una técnica de biología molecular descrita por MULLIS *et al.* (1986), que tiene como objetivo amplificar la cantidad de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de una cantidad mínima, obtenida inicialmente a través de la extracción.

Con auxilio de una pipeta, se extrajo 5µL de cada muestra que fueron alicuotados en un tubo para microcentrífuga, al cual se le añadía:

- desoxinúcleotidotrifosfato (dNTPS) para polimerizar nuevo ADN;
- Cloruro de Magnesio (50µM);
- Solución tampón para mantener el pH adecuado para el funcionamiento óptimo de la ADN Taq polimerasa;
- ADN Taq Polimerasa (Taq Biotools);
- Agua estéril;
- Dos *primers*, que son oligonucleótidos complementarios a una de las dos hebras de ADN a ser analizado. Estos *primers* son secuencias cortas, que son reconocidos por la Taq polimerasa y delimitan la zona de ADN a ser amplificada, de manera a que uno de estos primers se une a la cadena molde del ADN (*forward*) y el otro a la cadena complementaria (*reverse*). Estos *primers* fueron: EntaF (*forward*) (5'-ATG CAC GAG AGC GAA AGC AT) EhR (*reverse*, específico para la identificación de *E. histolytica*) (5'- GAT CTA GAA ACA ATG GTT CTC T) y EdR (*reverse*, específico para *E. dispar*) (5'- CAC CAC TTA CTA TCC CTA CC) (HAMZAH *et al.* 2006).

Los volúmenes requeridos para llevar a cabo la PCR, así como sus condiciones, fueron ajustados después de varias pruebas según el protocolo descrito por HAMZAH *et al.* (2006).

Todo el proceso de la PCR se llevó a cabo mediante el termociclador MiniCycler™ (MJ Research, Watertown, MA, EUA), el cual permitió calentar y enfriar los tubos de

microcentrífuga con la reacción, y también controlar la temperatura necesaria para cada etapa de la reacción.

2.2.2.2.2.- ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA

A fin de verificar si la PCR generó o no la amplificación del fragmento de ADN deseado, se emplearon técnicas de electroforesis en gel de agarosa al 2%, siguiendo la metodología utilizada por SAMBROOK *et al.* (1989).

Los fragmentos de ADN generados en la PCR se separan de acuerdo a su carga y, dependiendo de la matriz utilizada, a su tamaño. La electroforesis en gel de agarosa permite separar molecular de ADN, ya que cuando éstas se someten a un campo eléctrico son atraídas hacia el polo opuesto de la carga que poseen. Las mezclas de ADN de diferentes tamaños migran por el gel de agarosa durante cierto tiempo, obteniéndose una separación, en que la distancia recorrida por una molécula de ADN, es inversamente proporcional a su longitud en pares de base, es decir, a su tamaño. El tamaño de los productos de la PCR se determinan por un marcador de peso molecular de ADN, que contiene fragmentos de ADN conocidos, y que se separa en el gel junto con los productos de PCR, a fin de luego marcar, según la banda obtenida con los productos de la reacción, los pares de base que esta banda tiene, o sea, el tamaño que tiene la molécula de ADN amplificada.

El equipo y material necesario para realizar la electroforesis en gel de agarosa son:

- cubeta de electroforesis;
- equipo de electroforesis;
- peine, que sirve como mole para formar “pocillos” en los cuales deben cargarse las muestras;
- molde para el gel de agarosa;
- tampón de electroforesis TAE (compuesto por: 48,1 g/L de Tris base; 1,14% de ácido acético y 10 μ M de EDTA);
- buffer de carga, que contiene un compuesto que aumenta la densidad de la muestra, para que de esta manera, ésta se deposite en el fondo de los pocillos;

- colorante SafeView™ (NBS Biologicals, Reino Unido), el cual es menos tóxico que el Bromuro de Etídio y se trata de un compuesto fluorescente (en luz ultravioleta), empleado para teñir los ácidos nucleicos que migran en gel, permitiendo monitorear hasta dónde ha migrado la muestra.

La preparación del gel de agarosa se describe a continuación:

- se determinó la cantidad de agarosa necesaria para preparar el gel de agarosa al porcentaje deseado (en este caso, según la bibliografía empleada para la metodología, este porcentaje fue al 2%) y se añadió el tampón de electroforesis TAE para calentar posteriormente en un horno microondas, a fin de que la agarosa se disolviese totalmente;
- seguidamente, para evitar que el colorante SafeView™ se desnaturalizase con la elevada temperatura de la agarosa, se dejó enfriar la solución de agarosa hasta aproximadamente unos 40°C, para añadir dicho colorante;
- posteriormente, se posicionó el molde para formar el gel, en una superficie plana y bien nivelada, para obtener en el gel un espesor homogéneo y se colocó el peine;
- se vierte a continuación, la solución líquida de agarosa en el molde, evitando la formación de burbujas y dejando que solidifique a temperatura ambiente, proceso que ocurre en aproximadamente en 30 minutos. Una vez solidificado, se retira el peine y se observa que todos los pocillos estén bien formados;
- seguidamente, el molde con el gel solidificado (de apariencia opaca y blanquecina) se coloca en la cubeta de electroforesis y se cargan los pocillos del gel, con un volumen determinado de los productos obtenidos en la PCR, dedicando siempre un pocillo para cargar el marcador de peso molecular y todos los demás para cargar las muestras y los controles;
- una vez cargado el gel, se conecta el equipo de electroforesis uniendo los electrodos positivo (rojo) y negativo (negro) a los terminales correspondientes, cerrando adecuadamente la cubeta de electroforesis. Se selecciona el voltaje y tiempo deseado (60 voltios y 400mA) durante 30 minutos.

Para visualización de las bandas amplificadas de ADN en el gel de agarosa, se utilizó un sistema de captura y análisis de imagen (ChemiDoc™, Bio-Rad) que emite en

su cámara luz ultravioleta (UV) y se usó el software de análisis Quantity One (Bio-Rad), que permitía la visualización de las bandas digitalmente mediante ordenador conectado al sistema de captura y análisis de imagen. De esta manera, se pudo calcular los tamaños moleculares aproximados, comparando las bandas resultantes de las muestras con las bandas del ADN del marcador molecular.

Gracias a disponer de controles de cada una de las especies a diferenciar (*E. histolytica* y *E. dispar*), la simple visualización de la banda de ADN en el gel de agarosa permitía la identificación de la especie en cuestión, por comparación con la banda que aparecía en las muestras control.

2.2.3.- DE ÍNDOLE ESTADÍSTICO

En este subapartado, se describe los procesos aplicados para la organización de los datos obtenidos, que posteriormente fueron sometidos a pruebas estadísticas. Se incluye también el fundamento de las pruebas estadísticas aplicadas en cada caso.

2.2.3.1.- BASE DE DATOS Y TABULACIÓN DE RESULTADOS

La base de datos para analizar los resultados de cada niño estudiado fue realizada a partir del programa EXCEL 2013. En esta base de datos, se tabularon los resultados obtenidos de cada individuo, facilitando la clasificación y descripción de todos los resultados del estudio y la creación de gráficos con los resultados.

2.2.3.2.- METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El tratamiento estadístico se ha realizado con el programa STATA versión 12 para el Windows.

STATA es un programa desarrollado por StataCorp (Texas, EUA), que permite importar datos en formato Excel, así como organizarlos, aparte de que se pueden ejecutar los cálculos epidemiológicos.

2.2.3.2.1.- ESTADÍSTICA

La muestra analizada en la población escolar del Colegio Nemba I ha sido tratada tanto con estadística descriptiva, como con estadística inferencial, ambas descritas a continuación.

A) ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

La estadística descriptiva recoge, procesa, presenta y analiza la información de la población objeto de estudio, dando resultados sobre su situación general, para su posterior comparación y análisis (MARTÍNEZ-VACA, 2003)

La “media aritmética” (MA) es un valor representativo de un conjunto de datos numéricos e indica también el valor central de este conjunto de datos. Es igual a la suma de todos los valores dividido por el número de elementos sumados. De esta forma, teniendo en cuenta n números $\{a_1, a_2, \dots, a_n\}$ la media aritmética se define como:

$$MA = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n ai = \frac{a_1 + a_2 + \dots + a_n}{n}$$

La “media geométrica” (MG) de un conjunto de n números positivos se define como la raíz n -ésima del producto de los n números. Todos los elementos del conjunto de números deben ser mayores que cero. Esta media es menos sensible que la media aritmética a los valores extremos. La fórmula es dada por:

$$MG = \sqrt[n]{(a_1)(a_2) \dots (a_n)}$$

La media aritmética y la media geométrica han sido empleadas en la presente Tesis para cálculos relacionados con los resultados obtenidos en la técnica cuantitativa de Kato-Katz.

Todavía dentro de la estadística descriptiva, en este trabajo se ha calculado la “prevalencia”. La prevalencia es una proporción que indica la frecuencia de un evento. Es la proporción de la población que padece la enfermedad en estudio, en un momento dado (HERNÁNDEZ, 2007). Así, la prevalencia parasitaria es una medida calculada a

partir de la proporción de individuos infectados con una especie parásita en particular, dividido por el número total de individuos que participaron en el estudio. Esa proporción se multiplica por 100, para de esta manera obtener el porcentaje de población afectada por dicha enfermedad.

Así, la prevalencia se calcula de la siguiente forma:

$$Prevalencia = \frac{\text{Número de parasitados}}{\text{Total de individuos del estudio}} \times 100$$

Estas prevalencias sirven para posteriormente establecer estadísticas de riesgo, permitiendo también desarrollar políticas de prevención a fin de evitar tal enfermedad en los grupos de riesgo.

B) ESTADÍSTICA INFERENCIAL

Esta estadística se utiliza cuando estamos en la situación de predecir algo que podría ocurrir, a partir de la información recibida de la estadística descriptiva (MARTÍNEZ-VACA, 2003) generalizando de esta manera los resultados obtenidos en la muestra a la población o el universo.

La estadística inferencial describe las relaciones entre un conjunto de variables, contrastando también las relaciones entre éstas y prediciendo valores esperados de una variable o de un conjunto de ellas.

Toda inferencia se acompaña de su probabilidad de acierto, conocida como el “nivel de significancia” o “nivel alfa”, que es el nivel de la probabilidad de equivocarse, ya que no existe la certeza total. El nivel de significancia definido en el presente estudio ha sido del 0,05 (p-valor=0,05). Esto implica que se puede en un 95% aceptar la hipótesis planteada y sólo en un 5% ésta se rechaza.

Otra prueba aplicada a la población estudiada es el cálculo del “intervalo de confianza”. El intervalo de confianza es un conjunto de valores formado a partir de una muestra de datos de forma que exista la posibilidad de que el parámetro poblacional

ocurra dentro de dicho intervalo con una probabilidad específica, un nivel de confianza, siendo que $1-\alpha$, siendo α el nivel de significancia, o sea, la probabilidad de equivocarnos. Generalmente, se construyen intervalos de confianza de $1-\alpha=95\%$ (significancia $\alpha=5\%$). En un intervalo de confianza del 95%, se espera que aproximadamente el 95% de estos intervalos contengan la media de la población y el 5% de los intervalos no la contendrían. Este intervalo de confianza significa que si se repitiera el estudio 100 veces, el 95 de las prevalencias incluiría el verdadero valor del parámetro.

Se describe a continuación el tratamiento estadístico que se ha utilizado para comparar dos o más variables, además del tratamiento que se ha aplicado a fin de caracterizar el grado de asociación que pueda existir entre alguna especie parasita frente a una variable epidemiológica o nutricional.

En este subapartado se describe el tratamiento estadístico utilizado para comparar dos o más variables, además del posible grado de asociación que pueda existir entre alguna especie parásita frente a una variable epidemiológica o nutricional.

B.1) PRUEBA DE CHI CUADRADO (χ^2)

Se describe a continuación la base teórica del tratamiento estadístico empleado para comparar dos o más proporciones.

La prueba de χ^2 evalúa la hipótesis acerca de la relación entre dos variables, pero no indica el grado o el tipo de relación, es decir no indica el porcentaje de influencia de una variable sobre la otra, no indica la variable que causa la influencia.

Este test suele calcularse a partir de una tabla 2x2, donde cada variable aparece a un lado de la tabla, cada una con sus dos categorías (positivo/negativo o sí/no).

En la Tabla 4 se muestra un ejemplo de tabla 2x2, en la cual se muestra la comparación de dos variables dicotómicas. Los valores a, b, c y d, son las frecuencias observadas del suceso, siendo "n" el número total de casos estudiados en el cruce de ambas variables y a+b, c+d, a+c y b+d son los totales marginales.

Primera variable cualitativa	Segunda variable cualitativa		Total
	Presente (Parasitado)	Ausente (No Parasitado)	
Presente	a	b	a + b
Ausente	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	n

Tabla 4.- Ejemplo de Tabla 2x 2. Ejemplificación de dos variables dicotómicas para la realización del cálculo del χ^2 .

Teniendo como base a esta tabla se puede determinar si hay relación estadísticamente significativa entre las variables estudiadas, además de cuantificar dicha relación para estudiar su relevancia clínica y epidemiológica.

El cálculo de χ^2 se puede realizar a partir de la siguiente fórmula:

$$X^2 = [n (|ad - bc|n)^2] / [(a + b)(a + c)(c + d)(b + d)]$$

Que a modo general puede ser calculada por medio de esta otra fórmula:

$$\chi^2 = \Sigma [(O-E)^2/E]$$

Dónde O es la frecuencia observada y E la correspondiente frecuencia esperada teórica. Cuanto mayor es el χ^2 menos verosímil es que la hipótesis sea correcta y así mismo, cuanto más se aproxima a cero el valor de χ^2 más verosímil es la hipótesis.

El número de grados de libertad (gl) de la prueba de χ^2 equivale al número de columnas (k) menos uno, multiplicado por el número de filas (r) menos uno, de esta manera, tenemos la siguiente fórmula:

$$gl = (r-1)(k-1)$$

Generalmente, cuando se calcula χ^2 a partir de un paquete estadístico computacional, como el utilizado para este estudio, STATA 12, el resultado de χ^2 va acompañado de su significancia. En caso de que esta significancia sea menor de 0,05 (p-valor=0,05), la hipótesis supuesta es aceptada.

B.2) ODDS RATIO

El Odds Ratio (OR) o también denominado razón de posibilidades, es una medida epidemiológica y que es el cociente entre la probabilidad de que ocurra un evento y la probabilidad que éste no ocurra. Representa cuanto más probable es la ocurrencia de un factor (en este caso la presencia de parásitos intestinales) que su no ocurrencia.

El Odds Ratio responde a la pregunta “¿cuántas veces es mayor la probabilidad de la enfermedad para las personas expuestas a cierto factor que para las no expuestas?”

Considerando la Tabla 5 podemos calcular el OR, mediante la siguiente fórmula:

$$OR = [a \times d] / [b \times c]$$

En esta fórmula:

- a: corresponde al número de individuos expuestos a determinado factor epidemiológico y afectados (parasitados);
- b: es el número de individuos expuestos a este factor de riesgo y no afectados (no parasitados);
- c: es el número de individuos no expuestos al factor epidemiológico y afectados (parasitados);
- d: corresponde al número de individuos no expuestos al factor epidemiológico y no afectados (no parasitados);
- n: número total de individuos analizados.

Factor de Riesgo	Casos (Parasitados)	Controles (No Parasitados)	Total
Presente	a	b	a + b
Ausente	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	n

Tabla 5.- Ejemplo de Tabla 2x 2. Ejemplificación de dos variables dicotómicas para la realización del cálculo del OR.

Es decir, la probabilidad de exposición (odds) es el cociente a/c observado en el grupo de los casos y el cociente b/d, es la odds de exposición del grupo control.

El OR no tiene dimensiones y tiene un rango que va desde 0 hasta el infinito. Sin embargo, según el número obtenido mediante esta fórmula, se observa cómo es la asociación entre las variables epidemiológicas y el parasitismo, dónde cabe entender que si OR es:

- Mayor que 1: Significa que la asociación establecida entre el factor de epidemiológico y el hecho de que haya parasitación o no, es positiva, es decir la presencia del factor epidemiológico se asocia a mayor ocurrencia de parasitación, es un factor de riesgo;
- Igual a 1: Significa que no hay asociación entre la presencia del factor epidemiológico y el parasitismo intestinal;
- Y menor que 1: La asociación entre el factor epidemiológico y el parasitismo intestinal es negativa. El factor epidemiológico en verdad es un factor protector contra las parasitosis.

Además también se calculó el intervalo de confianza del 95% (IC95%) del OR, que es el rango en el que se encuentra el verdadero valor de OR. Estos intervalos permiten obtener una buena estimación cuando el OR se aproxima a 1, pero se hace menos estable para OR que sean mayores.

El OR, su IC95% y el p-valor, inicialmente fueron calculados mediante Regresión Logística Binaria, después, con las variables que salían con el p-valor significativo, fueron analizadas en conjunto a fin de observar posibles interacciones entre las diferentes variables epidemiológicas y la parasitación intestinal, esto, calculado a partir de una Regresión Logística Múltiple.

A cada Regresión Logística Múltiple se le aplicó además el Test de Hosmer y Lemeshow, que evalúa la bondad de ajuste del modelo propuesto a partir del conjunto de variables que individualmente fueron significativas. Este test, ofrece el p-valor de

Hosmer y Lemeshow, y para que el modelo sea considerado correcto, es decir, que el modelo se ajusta, debe ser superior a 0,05.

2.2.4.- DE ÍNDOLE NUTRICIONAL

En este apartado se muestra todos los métodos y técnicas aplicados en el estudio nutricional de la presente Tesis Doctoral.

2.2.4.1.- OBTENCIÓN DE DATOS EN EL COLEGIO NEMBA I

Para el estudio nutricional fue necesario obtener de cada estudiante la edad, la altura y el peso (a través de la encuesta epidemiológica).

2.2.4.1.1.- MEDICIÓN DE LA ALTURA DE LOS ESCOLARES

Para medir a los escolares se utilizó una cinta métrica metálica y rígida. Antes de medir cada niño, se certificó que los niños mantuviesen la nuca, los hombros, los glúteos, las pantorrillas y los talones alineados en el mismo plano vertical perpendicular al suelo y la cabeza posicionada contra la pared según el Plano de Frankfurt, mostrado en la Figura 14, plano éste, definido por un plano paralelo al suelo que pasa por el punto superior del meato auditivo externo y el punto inferior de la órbita.

Una vez se posicionaba al estudiante correctamente, se estiraba la cinta a lo largo de la estatura del escolar y se leía la altura en centímetros y se anotaba en las encuestas socioeconómicas del escolar. La lectura se realizaba con los ojos en el mismo plano horizontal que la marca de la cinta métrica.

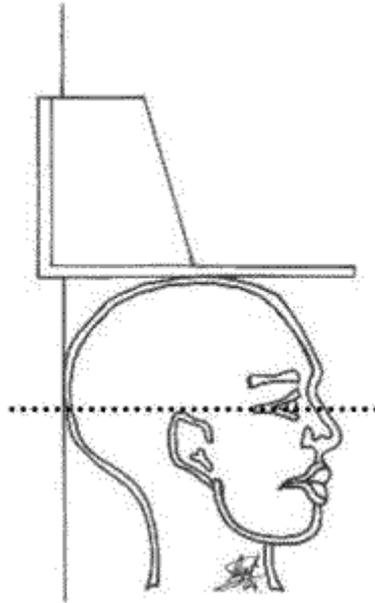


Figura 14.- Esquema del Plano de Frankfurt, dónde se muestra la posición de la cabeza del escolar en el momento de la medición de la altura.

2.2.4.1.2.- MEDICIÓN DEL PESO DE LOS ESCOLARES

Para pesar a los escolares, se utilizó una báscula mecánica previamente calibrada mediante el uso de pesas previamente taradas. Antes de pesar a cada niño, se certificó que los niños se quitasen ropa en exceso u accesorios que pudiesen interferir en la medición del peso, como chaquetas y zapatos. El niño debía entonces subir en la báscula y posicionarse en medio de la plataforma de medición, con los hombros relajados y brazos holgados a lo largo del cuerpo. Además, se comprobó que la cabeza se mantuviese firme y que el escolar mantuviese la vista en un punto firme. El individuo debía mantenerse quieto, sin movimientos para evitar oscilación en la lectura del peso. Una vez el niño se encontraba inmóvil encima de la báscula, se realizaba la lectura del peso en kilogramos y se anotaba esta medida en la encuesta socioeconómica de cada escolar.

2.2.4.2.- MANEJO DE LOS DATOS NUTRICIONALES

Los datos de peso, altura y edad de cada escolar, se juntaron en una base de datos en formato Excel.

Este hecho permitió que los datos pudiesen ser importados al programa AnthroPlus (versión v.1.0.4), software desarrollado por la OMS. Por medio de este programa se pudo calcular los Puntajes-Z de los escolares, para cada índice antropométrico. Para el resto de los análisis estadísticos a realizar con estos Puntajes-Z, se utilizó el programa estadístico STATA 12.

2.2.4.2.1.- CÁLCULOS NUTRICIONALES

Para el cálculo de los índices antropométricos descritos detalladamente en los apartados siguientes se utilizó los “Puntajes-Z”.

Los Puntajes-Z son transformaciones que se pueden hacer a los valores de una distribución normal, con el propósito de analizar su distancia respecto a la media, expresándolas en unidades de desviación estándar.

Un Puntaje-Z lo que hace es decirnos cuántas unidades de desviación estándar del promedio está un puntaje determinado. Para el cálculo de este puntaje, se requiere que la distribución de los datos sea normal y para calcularlo, además, debe conocerse el promedio y la desviación estándar de los puntajes.

En este caso, el Puntaje-Z es una alternativa para interpretar los índices antropométricos, el cual denota unidades de desviación estándar desde la mediana.

El Puntaje-Z se calcula a partir de la siguiente fórmula:

$$Puntaje\ Z = \frac{(valor\ observado) - (valor\ de\ la\ mediana\ de\ referencia)}{(Desviación\ estándar\ de\ la\ población\ de\ referencia)}$$

2.2.4.2.2.- POBLACIÓN DE REFERENCIA

Con anterioridad a 2006, se utilizaba las curvas de crecimiento de referencia del National Center for Health Statistics (N.C.H.S.) de los E.U.A. Sin embargo, estas tablas fueron realizadas a partir de una población de niños en los E.U.A. y presentaban ciertos inconvenientes técnicos y biológicos y únicamente indicaban la manera de crecer de

niños de una sola región del mundo en apenas un momento determinado, por lo que no constituían un estándar de cómo deben crecer mundialmente los niños.

A partir del 2006, la O.M.S. difundió un nuevo patrón de referencia para la evaluación del crecimiento infantil, en el que se establecieron datos que confirmaron que todos los niños de cualquier parte del mundo, si reciben cuidados y atención óptimos desde el nacimiento, tienen el mismo potencial de crecimiento.

Las curvas patrón de crecimiento de la O.M.S. incluyó a 8440 niños de diferentes entornos y etnias. Se seleccionaron niños de 6 países participantes los cuales fueron Brasil, Ghana, India, Noruega, Omán y Estados Unidos. A los niños de este estudio se les realizó un seguimiento longitudinal desde el nacimiento hasta los 24 meses de edad, a parte de un estudio transversal de niños entre los 18 y 71 meses. Igualmente, se exigió que todos los niños participantes fuesen alimentados de forma exclusiva con leche materna y que crecieran en condiciones favorables para su desarrollo.

Este estudio, denominado “Estudio Multicéntrico sobre el Patrón de Crecimiento” (MGRS) demostró increíbles similitudes entre los 6 países participantes, con apenas un 3% de diferencia entre los promedios de crecimiento de cada lugar.

La O.M.S. publicó un año más tarde (ONIS *et al.*, 2007) los patrones de referencia para evaluar el crecimiento de niños y niñas desde los 5 hasta los 19 años de edad, los cuales completan las curvas desarrolladas para evaluar a niños menores de 5 años.

Es por todo este historial que, en la presente Tesis, se consideraron las curvas de crecimiento de referencia de la O.M.S. (ONIS *et al.*, 2007). La población total del estudio, fue comparada según los índices antropométricos descritos con anterioridad, con los índices de la población de referencia, a fin de ver a modo poblacional los diferentes tipos de desnutrición.

2.2.4.2.3.- ÍNDICES ANTROPOMÉTRICOS DEL ESTUDIO

Para evaluar el estado nutricional se utilizan indicadores nutricionales, llamados índices antropométricos. Para este estudio se utilizaron tres índices antropométricos, los cuales se detallan a continuación.

A) TALLA PARA LA EDAD (T/E)

Este índice antropométrico permite identificar retraso en el crecimiento lineal, llamado “desmedro”, debido a algún aporte nutricional insuficiente o a infecciones recurrentes como las helmintiasis u otras infecciones diarreicas.

Este tipo de desnutrición ocurre a lo largo de cierto tiempo, es decir, debido a la insuficiente ingesta nutricional en un largo periodo de tiempo, por lo que a esta insuficiencia nutricional, relacionada con la estatura, se le llama desnutrición crónica.

Generalmente un niño desmedrado, por sus proporciones corporales parece normal. Sin embargo, este niño presenta menor estatura para su edad de la que debería. Por esto, a este tipo de desnutrición se le denomina también desnutrición silenciosa. La Figura 15 muestra este tipo de desnutrición en el ser humano.

El desmedro afecta a aproximadamente 165 millones de niños con edad inferior a 5 años en todo el mundo (GORSTEIN *et al.*, 1994), por lo que este número debe ser superior, considerando a niños mayores de 5 años. El desmedro generalmente tiene difícil recuperación además de que los niños desmedrados suelen tener mayor riesgo de atraso cognitivo y de aprendizaje.

En el presente estudio se consideró que un escolar presentaba desmedro cuando éste presentaba un Puntaje-Z para este índice antropométrico inferior a menos dos desviaciones estándar (<-2 SD).

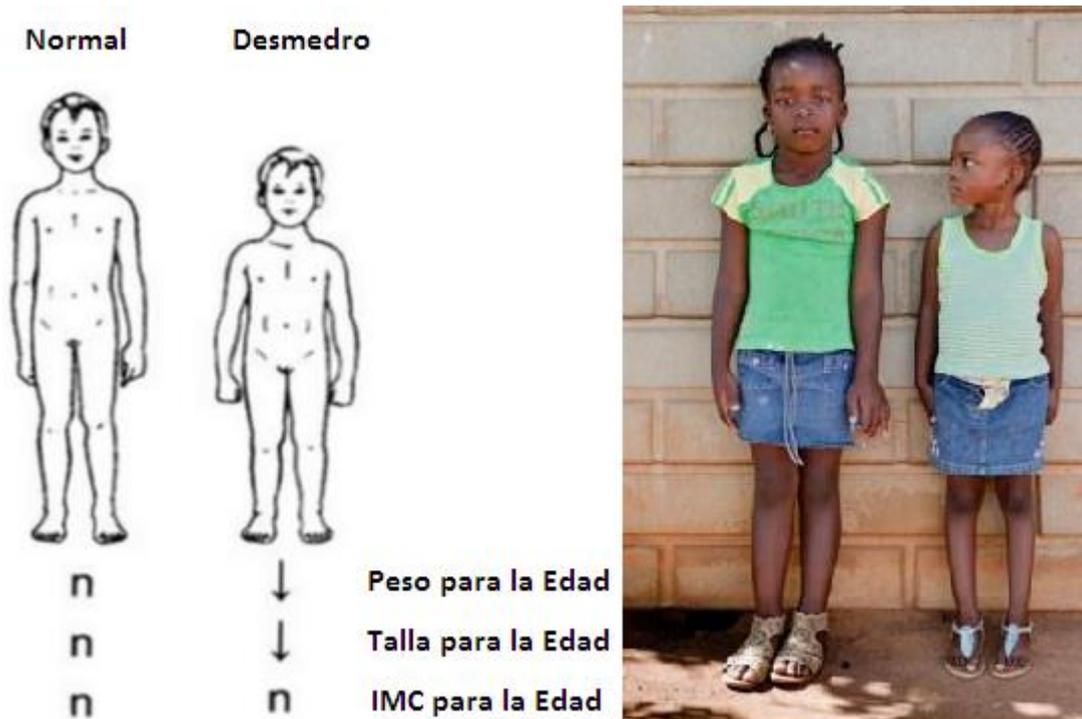


Figura 15.- Niños de la misma edad, dónde el de la derecha representa al desmedro. Su apariencia es normal y no parece desnutrido, aunque para su edad, no ha crecido debidamente a causa de falta de nutrientes.

B) ÍNDICE DE MASA CORPORAL PARA LA EDAD (IMC/E)

El índice antropométrico de IMC/E considera si el niño tiene el índice de masa corporal adecuado para su edad.

Este tipo de desnutrición suele ocurrir con la insuficiente toma de alimentos o infecciones fuertes cuando ocurren de manera repentina y a corto plazo, por lo que suele ser denominada de “desnutrición aguda”, que permite identificar la delgadez. La Figura 16, mostrada a continuación, muestra gráficamente el problema de la delgadez.

En el presente trabajo, se consideró que un escolar presentaba delgadez cuando éste presentaba un Puntaje-Z para este índice antropométrico inferior a menos dos desviaciones estándar (<-2 SD).

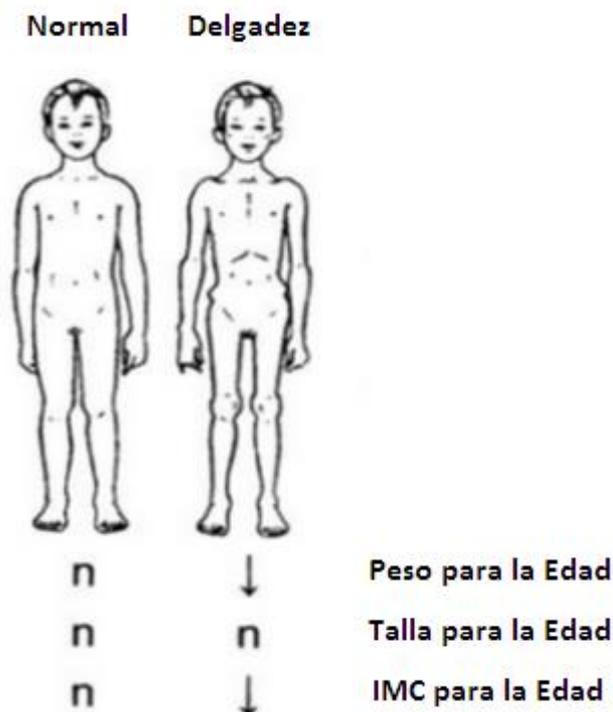


Figura 16.- Niños de la misma edad, dónde el de la derecha representa el estado de delgadez. Su estatura es la adecuada para su edad, aunque presenta una delgadez no normal para su edad.

C) PESO PARA LA EDAD (P/E)

Este índice antropométrico permite identificar nutricionalmente el bajo peso según la edad del escolar, es decir permite comprobar si el escolar tiene el peso adecuado o no para la edad que tiene.

Este tipo de desnutrición engloba la desnutrición por desmedro y la desnutrición por delgadez. Una disminución en la altura, y en la delgadez, genera menor peso para la edad. Este índice antropométrico mide cuando estas dos formas de desnutrición ocurren simultáneamente.

Este índice solamente es válido en niños con edades inferiores a 10 años, pues a partir de esta edad los niños entran en la pubertad y el peso para la edad, por los cambios corporales, ya no es un índice adecuado para evaluar la desnutrición por lo que para estas edades superiores se usan apenas los índices descritos anteriormente.

Aproximadamente 101 millones de niños padecen bajo peso en el mundo, estimación ésta que considera únicamente a niños con edad inferior a 5 años (GORSTEIN *et al.*, 1994), por lo que esta prevalencia a nivel mundial, debe ser mayor cuando se trata de niños con edades superiores. Este índice se encuentra representado visualmente en la Figura 17, mostrada a continuación.

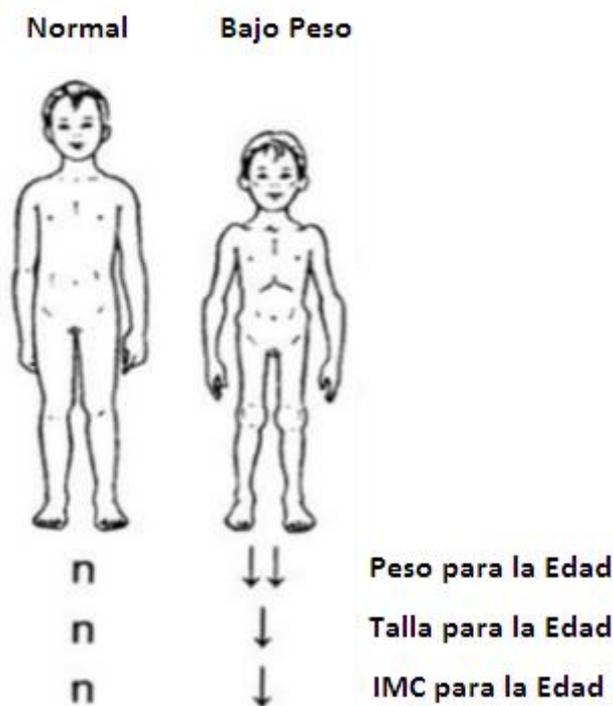


Figura 17.- Niños de la misma edad, dónde el de la derecha, representa el estado de Bajo Peso. Su estatura y su peso no son los adecuados para su edad.

Para la presente Tesis se consideró que un escolar presentaba bajo peso cuando éste presentaba un Puntaje-Z para el índice antropométrico P/E inferior a menos dos desviaciones estándar (<-2 SD).

2.2.5.- DE ÍNDOLE HEMÁTICO

Todos los escolares una vez pesados y medidos, eran atendidos por enfermeros del Hospital de Nemba que procedían a la extracción de sangre del brazo.

Métodos y Técnicas

El hemograma fue realizado con ayuda del personal técnico del laboratorio del Hospital de Nemba, a partir de un sistema automatizado en hematología, que proporcionaba los datos hematológicos directamente. Estos datos hematológicos fueron posteriormente agregados a la base de datos en Excel y al programa estadístico para su consecuente análisis.

Dado que los niños habitan en varios sectores del distrito, y que el distrito tiene variaciones en relación a la altitud a nivel del mar (entre los 1.700 y 2.700 metros), se aplicó un ajuste a nivel de hemoglobina de cada escolar debido a la altitud según lo descrito por SULLIVAN *et al.* (2008), y según lo recomendado por la O.M.S (2001)

CAPÍTULO TERCERO: RESULTADOS

3.- RESULTADOS

En este capítulo se expone los resultados obtenidos en los escolares del Colegio Nemba I, colegio localizado en Nemba, Gakenke, Ruanda. En concreto, este capítulo se ha dividido en ocho apartados para abordar todos los aspectos estudiados en la presente Tesis Doctoral:

- *Primer apartado:* trata sobre el espectro parasitario y las prevalencias de parasitación encontradas con la técnica de concentración formol-acetato de etilo modificado en la población objeto de estudio y la relación de estas prevalencias con los factores intrínsecos de sexo, edad y grado escolar;
- *Segundo apartado:* sobre el estudio del multiparasitismo;
- *Tercer apartado:* abordar las asociaciones entre las diferentes especies parasitas;
- *Cuarto apartado:* destinado a los resultados obtenidos en relación a las intensidades de infección, a partir de la técnica cuantitativa de Kato-Katz y la relación de esta intensidad con los factores intrínsecos de sexo y edad;
- *Quinto apartado:* se observa los resultados generales de la eosinofilia en la población estudiada, así como la eosinofilia asociada a diferentes variables;
- *Sexto apartado:* se observa los resultados generales de la anemia en los escolares de Nemba I, así como los mecanismos de asociación con diferentes variables;
- *Séptimo apartado:* sobre los resultados de ámbito nutricional, obtenidos a partir del estudio antropométrico nutricional, para de esta forma conocer el estado nutricional general de la población infantil estudiada y la relación con el parasitismo;

Resultados

- *Octavo apartado*: destinado al análisis de las variables epidemiológicas para identificar el problema de salud pública relacionado con las parasitosis intestinales;
- y *Noveno apartado*: sobre las prevalencias de *E. histolytica* y/o *E. dispar* detectadas en el presente estudio mediante técnicas de Biología Molecular.

3.1.- EN RELACIÓN AL ESPECTRO PARASITARIO INTESTINAL Y LAS PREVALENCIAS DE PARASITACIÓN

El estudio coproparasitológico fue llevado a cabo en un total de 674 escolares, de los cuales 330 de ellos eran niños y 344 eran niñas. El presente estudio permitió la observación de un espectro parasitario constituido por 17 especies parásitas, de las cuales al menos 10 especies son protozoos y al menos 7 especies son helmintos, no detectándose trematodo alguno.

Las Figuras 18 y 19 muestran fotografías de algunas formas protozoarias encontradas durante el estudio microscópico, mientras que las Figuras 20 y 21 documentan fotográficamente los huevos de los helmintos encontrados en el presente estudio.

La Tabla 6 muestra las prevalencias de este espectro parasitario en la población total estudiada.

En el total del estudio, el 94,9% de los escolares mostró parasitación. De manera más concreta, el 94,5% presentó parasitación por algún protozoo y el 18,1% parasitación por algún helminto.

Entre los protozoos, el más prevalente fue *Endolimax nana* (91,1%) seguido de *Blastocystis hominis* (89,9%) y *Entamoeba coli* (57,2%). Entre las especies patógenas, conviene resaltar la parasitación por *Giardia intestinalis* (21%), por el complejo *Entamoeba* (21,8%), en dónde estaría *E. histolytica*, y *Cryptosporidium* sp. (0,6%). Entre los helmintos, los dos más prevalentes fueron *Trichuris trichiura* (11,1%) y *Ascaris lumbricoides* (6,8%), resultando las restantes especies por debajo del 1%.

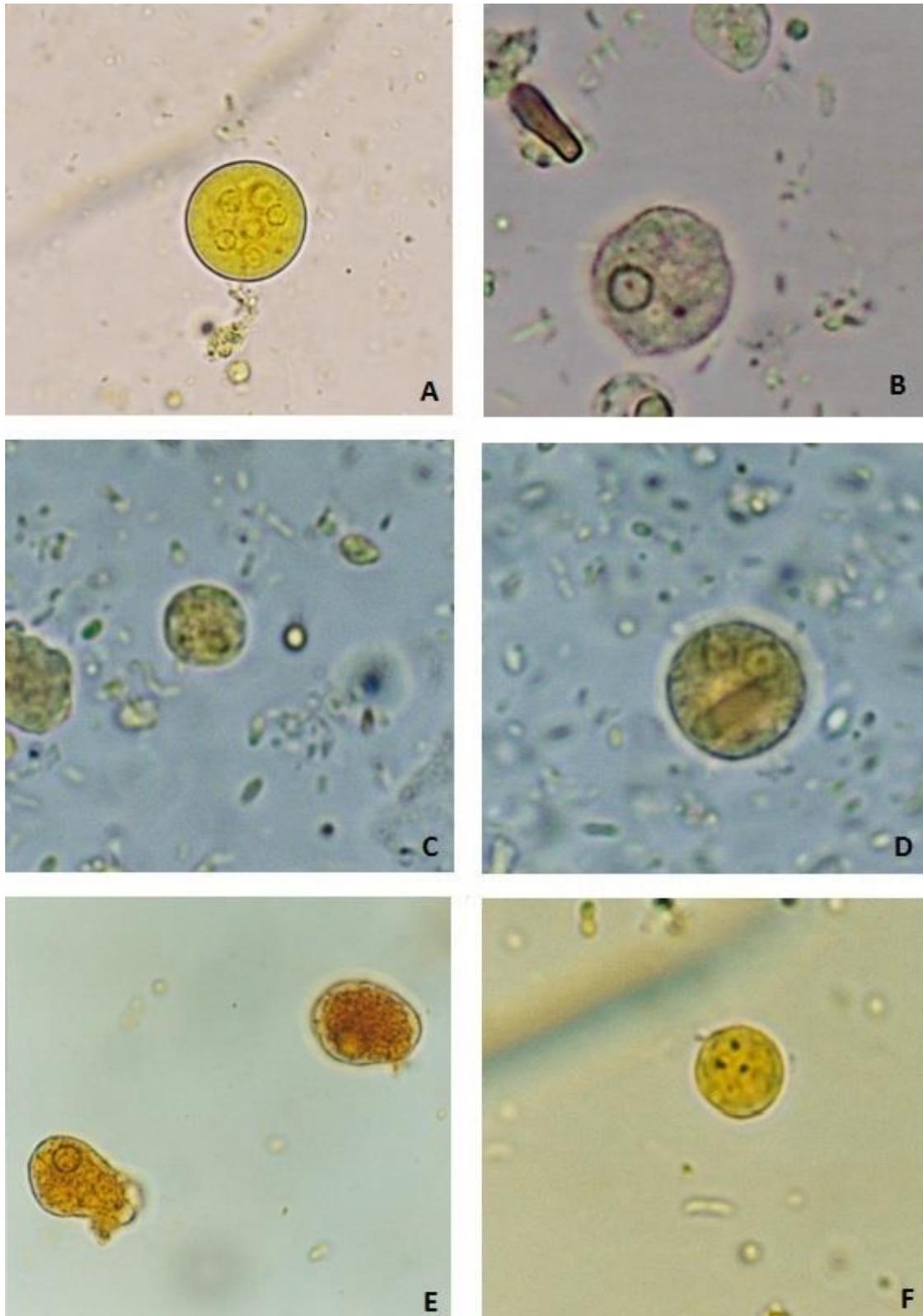


Figura 18.- Microfotografía de algunos de los protozoos detectados en el presente estudio. (A) quiste de *Entamoeba coli* teñido con lugol (21 μm); (B) trofozoíto de *E. coli* (30 μm); (C) quiste de *E. hartmanni* teñido con lugol (6 μm); (D) quiste de *E. histolytica/ E. dispar/ E. moskovskii* teñido con lugol (12 μm); (E) trofozoítos de *E. histolytica/ E. dispar/ E. moskovskii* teñidos con lugol (20 μm); (F) quiste de *E. nana* teñido con lugol (7 μm).

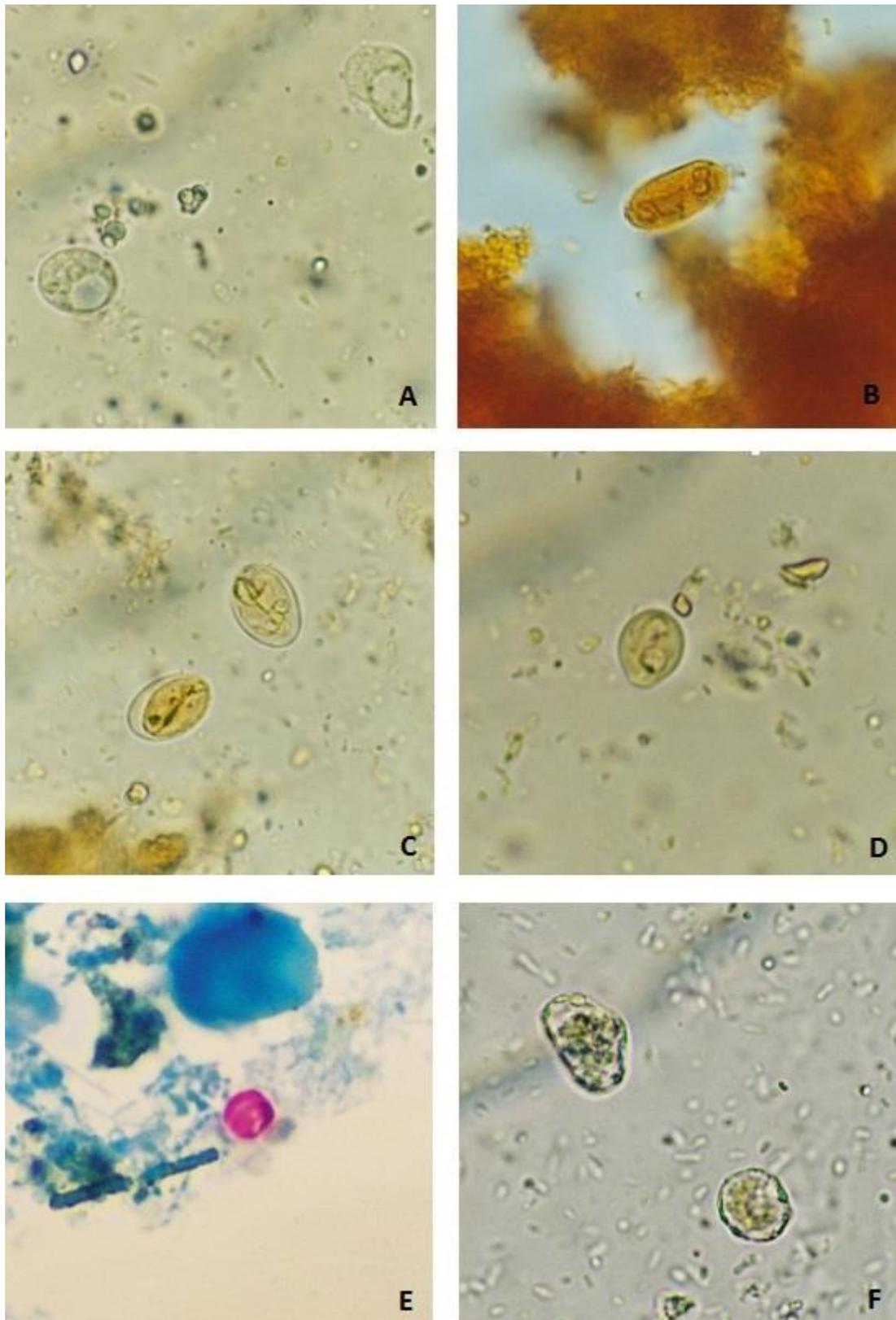


Figura 19.- Microfotografía de algunos de los protozoos detectados en el presente estudio. (A) quiste de *I. butschlii* (12 μ m); (B) quiste de *G. intestinalis* teñido con lugol (15 μ m); (C) quistes de *G. intestinalis* teñidos con lugol; (D) quiste de *C. mesnili* teñido con lugol (9 μ m); (E) Ooquiste de *Cryptosporidium* sp. Teñido con Ziehl-Neelsen (5 μ m) (F) forma vacuolar de *B. hominis* (derecha, 9 μ m).



Figura 20.- Microfotografía de algunos de los helmintos detectados en el presente estudio. (A) huevo de *H. diminuta* (75x62 μm); (B) huevo de *H. nana* (42x35 μm); (C) huevo de *Taenia solium* (35 μm); (D) huevo de *E. vermicularis* (52x25 μm); (E) huevo de *T. trichiura* (52x22 μm); (F) huevo fértil de *A. lumbricoides* (65x41 μm).

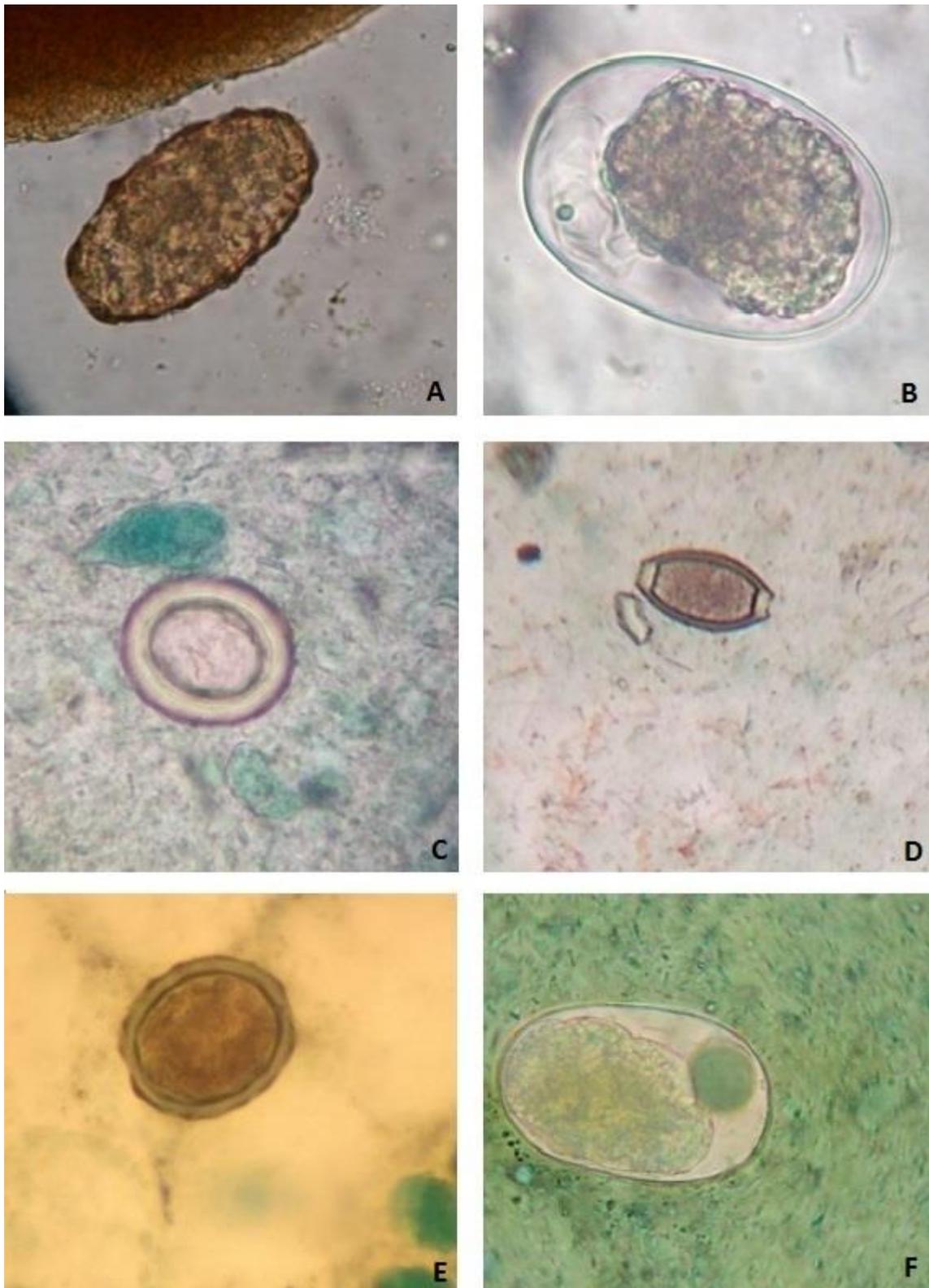


Figura 21.- Microfotografía de algunos de los helmintos detectados en el presente estudio. (A) huevo infértil *A. lumbricoides* (90x70 μm); (B) huevo de Ancylostomidae gen. sp. (63x37 μm); (C) huevo de *Taenia solium* (Kato-Katz); (D) huevo de *T. trichiura* (Kato-Katz); (E) huevo de *A. lumbricoides* (Kato-Katz); (F) huevo de Ancylostomidae gen. sp. (Kato-Katz).

TOTAL POBLACIÓN ESTUDIADA N=674		
Especies parásitas	n	% (IC95%)
Protozoos	637	94,5 (92,7-96,2)
<i>Entamoeba coli</i>	386	57,2 (53,5-61,0)
<i>Entamoeba hartmanni</i>	380	56,38 (52,6-60,1)
<i>Entamoeba complex*</i>	147	21,8 (18,6-24,9)
<i>Endolimax nana</i>	614	91,1 (88,9-93,2)
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	180	26,7 (23,3-30,0)
<i>Giardia intestinalis</i>	142	21,0 (17,9-24,1)
<i>Chilomastix mesnili</i>	20	2,9 (1,6-4,2)
<i>Enteromonas hominis</i>	2	0,3 (-0,1-0,7)
<i>Cryptosporidium</i> sp.	4	0,6 (0,0-1,1)
<i>Blastocystis hominis</i>	606	89,9 (87,6-92,1)
Helmintos	122	18,1 (15,1-20,9)
<i>Hymenolepis diminuta</i>	1	0,1 (-0,1-0,4)
<i>Hymenolepis nana</i>	2	0,3 (-0,1-0,7)
<i>Taenia solium</i>	2	0,3 (-0,1-0,7)
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	0,1 (-0,1-0,4)
<i>Trichuris trichiura</i>	75	11,1 (8,7-13,5)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	46	6,8 (4,9-8,7)
Ancylostomidae gen. sp.	2	0,3 (-0,1-0,7)
TOTAL PARASITADOS	640	94,9 (93,2-96,6)

Tabla 6.- Prevalencia de parasitación en la población total estudiada del Colegio Nemba I. N=número de escolares; totales estudiados; n=número de escolares parasitados; %= porcentaje de parasitación; IC95%= intervalo de confianza del 95%;**E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

3.1.1.- POR SEXO

El análisis de las prevalencias parasitarias, según el sexo, aparece recogido en la Tabla 7. De los 674 escolares que participaron en el estudio, cinco no presentaban sexo definido debido a la mala cumplimentación de la encuesta, por lo que subdividiendo las prevalencias por sexo, se observa un total de 669 escolares.

Resultados

Especies parásitas	TOTAL POBLACIÓN ESTUDIADA				
	N=669				
	MASCULINO N=328		FEMENINO N=341		p-valor
%	IC95%	%	IC95%		
Protozoos	93,6	90,9-96,2	95,3	93,0-97,5	0,333
<i>Entamoeba coli</i>	58,5	53,1-63,8	56,0	50,7-61,3	0,509
<i>Entamoeba hartmanni</i>	56,0	50,6-61,4	56,8	51,6-62,1	0,836
<i>Entamoeba complex*</i>	20,1	15,7-24,4	23,4	18,9-27,9	0,296
<i>Endolimax nana</i>	89,9	86,6-93,2	92,0	89,2-94,9	0,332
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	25,6	20,8-30,5	28,1	23,3-32,9	0,458
<i>Giardia intestinalis</i>	22,8	18,2-27,4	19,6	15,4-23,8	0,309
<i>Chilomastix mesnili</i>	3,3	1,3-5,3	2,6	0,9-4,3	0,588
<i>Enteromonas hominis</i>	0,3	-0,2-0,9	0,2	-0,2-0,8	0,978
<i>Cryptosporidium</i> sp.	0,9	0,0-1,9	0,2	-0,2-0,8	0,297
<i>Blastocystis hominis</i>	88,4	84,9-91,8	91,2	88,1-94,2	0,233
Helmintos	18,5	14,3-22,8	17,8	13,8-21,9	0,812
<i>Hymenolepis diminuta</i>	0,0	0	0,2	-0,2-0,8	0,326
<i>Hymenolepis nana</i>	0,0	0	0,5	-0,2-1,4	0,165
<i>Taenia solium</i>	0,3	-0,2-0,9	0,2	-0,2-0,8	0,978
<i>Enterobius vermicularis</i>	0,3	-0,2-0,9	0,0	0	0,308
<i>Trichuris trichiura</i>	11,8	8,3-15,4	10,5	7,2-13,8	0,585
<i>Ascaris lumbricoides</i>	7,0	4,2-9,7	6,7	4,0-9,4	0,891
Ancylostomidae gen. sp.	0,3	-0,2-0,9	0,2	-0,2-0,8	0,978
TOTAL PARASITADOS	93,9	91,2-96,5	95,8	93,7-98,0	0,241

Tabla 7.- Prevalencias de parasitación por sexo en el Colegio Nemba I. N= número de escolares totales estudiados; %= porcentaje de parasitación; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

Los escolares de sexo femenino se encuentran ligeramente más parasitados que los del sexo masculino (95,8% vs. 93,9%), pero sin observar diferencias estadísticamente significativas. En las prevalencias generales por protozoos, las niñas resultaron más parasitadas que los niños (95,3% vs. 93,6%) mientras que en relación a las prevalencias generales por helmintos, se observó lo opuesto. El sexo femenino tuvo mayores prevalencias en 7 de las especies parásitas encontradas, mientras que el sexo masculino obtuvo mayores prevalencias en 10 especies.

3.1.2.- POR GRUPOS DE EDAD

Los resultados de las prevalencias parasitarias por grupo de edad se muestran en la Tabla 8. En este caso, los datos de edad de 11 niños no se lograron obtener, por

lo que cruzando los grupos de edad con las prevalencias, se obtuvo un total de 663 escolares.

El grupo etario con mayor parasitación fue el de los niños más pequeños del estudio (edad de 6 y 10 años), presentando una parasitación total del 96,8%, sin diferencias significativas con los demás grupos etarios considerados. Además, los escolares de menor edad son los que presentaron mayor parasitación por los protozoos (96,1%). Sin embargo, se observó que el grupo más afectado por la parasitación por helmintos fue el de los niños más mayores (20,1%), con edades entre los 14 y 18 años.

Individualmente, se observó diferencias significativas en algunas especies. Así, se detectó diferencia significativa para *G. intestinalis* ($p=0,003$), siendo el grupo etario de 6 a 11 años el que presentó una mayor parasitación por este protozoo (25,6%), mientras que los niños con edades comprendidas entre los 14 y 18 años de edad tuvieron una menor prevalencia (10%). Igualmente, también se detectó diferencia significativa para *T. solium* ($p=0,006$), siendo los niños con edades comprendidas entre los 14 y 18 años los que presentaron parasitación con este parásito (1,8%), frente a la ausencia de esta especie en los demás grupos etarios.

3.1.3.- POR GRADO ESCOLAR

Dado que el sistema de escolarización es por grado escolar, más que por edad, y considerando que los escolares tienen contacto más próximo con sus compañeros de clase, se ha tenido en cuenta las prevalencias de parasitación según el grado escolar cursado, para llegar a una idea más real de la situación parasitológica existente.

Cabe decir que los grados escolares en el Colegio Nemba I no dependen tanto de la edad, ya que el intervalo etario es bastante amplio en un mismo grado. Así, el grado de 2º de Primaria está compuesto por escolares con edades comprendidas entre los 6 y los 14 años de edad; 3º de Primaria por escolares con entre 8 y 17 años; 4º de Primaria por 8 y 18 años; 5º de Primaria por 10 y 17 años y; finalmente, 6º de Primaria con escolares de entre 11 a 17 años de edad.

Resultados

Especies parásitas	TOTAL POBLACIÓN ESTUDIADA						p-valor
	N=663						
	6-10		11-13		14-18		
	N=289		N=265		N=109		
	%	IC95%	%	IC95%	%	IC95%	
Protozoos	96,1	93,9-98,4	93,2	90,1-96,2	92,6	87,6-97,6	0,212
<i>Entamoeba coli</i>	56,7	51,0-62,4	54,7	48,6-60,7	65,1	56,0-74,2	0,174
<i>Entamoeba hartmanni</i>	52,6	48,8-56,4	57,7	53,9-61,4	66,0	62,3-69,6	0,050
<i>Entamoeba complex*</i>	22,1	17,3-26,9	20,3	15,4-25,2	24,7	16,5-33,0	0,639
<i>Endolimax nana</i>	92,0	88,9-95,1	90,9	87,4-94,4	88,0	81,8-94,2	0,469
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	25,6	20,5-30,6	27,1	21,7-32,5	31,1	22,3-40,0	0,535
<i>Giardia intestinalis</i>	25,6	20,5-30,6	20,7	15,8-25,6	10,0	4,3-15,8	0,003
<i>Chilomastix mesnili</i>	3,8	1,5-6,0	1,8	0,2-3,5	2,7	-0,3-5,8	0,399
<i>Enteromonas hominis</i>	0,3	-0,3-1,0	0,0	0	0,0	0	0,523
<i>Cryptosporidium</i> sp.	1,3	0,0-2,7	0,0	0	0,0	0	0,074
<i>Blastocystis hominis</i>	91,0	87,6-94,3	89,4	85,7-93,1	87,1	80,7-93,5	0,517
Helmintos	19,3	14,7-23,9	16,2	11,7-20,6	20,1	12,5-27,8	0,536
<i>Hymenolepis diminuta</i>	0,0	0	0,3	-0,3-1,1	0,0	0	0,471
<i>Hymenolepis nana</i>	0,3	-0,3-1,0	0,0	0	0,9	-0,9-2,7	0,334
<i>Taenia solium</i>	0,0	0	0,0	0	1,8	-0,7-4,3	0,006
<i>Enterobius vermicularis</i>	0,34	-0,3-1,0	0,0	0	0,0	0	0,523
<i>Trichuris trichiura</i>	10,7	7,1-14,3	9,4	5,8-12,9	16,5	9,4-23,5	0,135
<i>Ascaris lumbricoides</i>	9,3	5,9-12,7	5,2	2,5-7,9	4,5	0,5-8,5	0,098
Ancylostomidae gen. sp.	0,0	0	0,3	-0,3-1,1	0,9	-0,9-2,7	0,317
TOTAL PARASITADOS	96,8	94,8-98,9	93,5	90,6-96,5	92,6	87,6-97,6	0,110

Tabla 8.- Prevalencias de parasitación por grupos de edad (años) en el Colegio Nemba I. N= número de escolares totales estudiados; %= porcentaje de parasitación; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; **E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*.

El total del estudio no mostró diferencias significativas según el grado escolar, aunque la clase escolar con mayor parasitación fue la de 2º de Primaria, con una parasitación total del 96,7%. En relación a los protozoos, los escolares de este nivel (2º de Primaria) fueron el grupo más afectado. En relación a los helmintos el grupo más afectado, aunque sin diferencias significativas, es el de los niños que cursan 4º de Primaria, con una prevalencia del 19,2% de parasitación (Tabla 9).

Especies parásitas	TOTAL POBLACIÓN ESTUDIADA N=674										p-valor
	2º PRIMARIA N= 186		3º PRIMARIA N= 159		4º PRIMARIA N= 140		5º PRIMARIA N= 123		6º PRIMARIA N=66		
	%	IC95%	%	IC95%	%	IC95%	%	IC95%	%	IC95%	
Protozoos	96,7	94,2-99,3	94,9	91,5-98,4	95,0	91,3-98,6	91,0	85,9-96,1	92,4	85,8-98,9	0,253
<i>Entamoeba coli</i>	54,3	47,0-61,5	59,1	51,3-66,8	64,2	56,2-72,3	52,0	43,0-60,9	56,0	43,7-68,3	0,275
<i>Entamoeba hartmanni</i>	51,0	47,2-54,7	52,8	49,0-56,5	67,1	63,5-70,6	58,5	54,7-62,2	53,0	49,2-56,7	0,039
<i>Entamoeba complex*</i>	20,9	15,0-26,8	20,7	14,3-27,1	27,1	19,6-34,6	21,1	13,8-28,4	16,0	7,4-25,8	0,467
<i>Endolimax nana</i>	92,4	88,6-96,2	91,1	86,7-95,6	92,8	88,5-97,1	87,8	81,9-93,6	89,3	81,7-97,0	0,583
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	22,5	16,5-28,6	25,7	18,9-32,6	39,2	31,0-47,4	22,7	15,2-30,2	21	11,0-31,3	0,005
<i>Giardia intestinalis</i>	24,7	18,4-30,9	27,6	20,6-34,7	20,7	13,9-27,5	13,0	6,9-19,0	10,6	2,9-18,2	0,005
<i>Chilomastix mesnili</i>	4,8	1,7-7,9	3,1	0,4-5,8	2,8	0,0-5,6	0,8	-0,7-2,4	1,5	-1,5-4,5	0,314
<i>Enteromonas hominis</i>	1,0	-0,4-2,5	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,261
<i>Blastocystis hominis</i>	91,3	87,3-95,4	90,5	85,9-95,1	90,7	85,8-95,5	86,1	79,9-92,3	89,3	81,7-97,0	0,638
<i>Cryptosporidium</i> sp.	1,6	-0,2-3,4	0,6	-0,6-1,8	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,263
Helmintos	18,1	13,1-24,4	18,8	12,7-25,0	19,2	12,6-25,9	16,2	9,6-22,8	15,1	6,2-24,0	0,920
<i>Hymenolepis diminuta</i>	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,8	-0,7-2,4	0,0	0	0,344
<i>Hymenolepis nana</i>	0,5	-0,5-1,5	0,0	0	0,0	0	0,8	-0,7-2,4	0,0	0	0,634
<i>Taenia solium</i>	0,0	0	0,0	0	0,7	-0,6-2,1	0,8	-0,7-2,4	0,0	0	0,532
<i>Enterobius vermicularis</i>	0,5	-0,5-1,5	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,622
<i>Trichuris trichiura</i>	8,6	4,5-12,6	13,2	7,8-18,5	11,4	6,0-16,7	13,0	6,9-19,0	9,0	1,9-16,2	0,622
<i>Ascaris lumbricoides</i>	11,8	7,1-16,5	5,0	1,5-8,4	7,1	2,8-11,4	1,6	-0,6-3,8	6,0	0,1-11,9	0,009
<i>Ancylostomidae</i> gen. sp.	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,8	-0,7-2,4	1,5	-1,5-4,5	0,210
TOTAL PARASITADOS	96,7	94,2-99,3	96,2	93,2-99,2	95,7	92,3-99,1	91,0	85,9-96,1	92,4	85,8-98,9	0,148

Tabla 9.- Prevalencias de parasitación por grado escolar cursado en el Colegio Nemba I. N= número de individuos totales estudiados; %= porcentaje de parasitación; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; **E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*.

Resultados

Ciertas especies sí mostraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los grados escolares. Así, el grupo de niños que cursaba 4º de Primaria presentó una mayor parasitación por *E. hartmanni* ($p=0,039$) respecto de las otras clases (27,1%). En relación a *G. intestinalis* ($p=0,005$), se observó que tuvo una mayor prevalencia en 3º de Primaria (27,6%); y *I. bütschlii* ($p=0,005$), con mayor prevalencia en 4º de Primaria (39,2%). Entre los helmintos, se observó diferencia significativa para *A. lumbricoides*, especie que tuvo mayor prevalencia en los escolares de 2º de Primaria (11,8%; $p=0,009$).

3.2.- EN RELACIÓN AL MULTIPARASITISMO

En el presente estudio se observó que el 4,9% de los escolares estudiados no presentaron ningún tipo de parasitación, es decir, resultaron negativos; mientras que el 95,1% estaba parasitado por al menos una especie parásita. En la Tabla 10 se observa que de éstos parasitados, 104 escolares (15,4%) estaban parasitados por solamente una especie y 537 (79,6%) presentaron más de una especie. Además, se ha evidenciado diferencia estadísticamente significativa ($p=0,00$) en la población estudiada en relación al predominio del multiparasitismo sobre el monoparasitismo.

El multiparasitismo más frecuente fue el de hasta 3 especies diferentes a la vez (19,2%). Los resultados obtenidos en el total del estudio del multiparasitismo aparecen recogidos en la Tabla 11. Sin embargo, el mayor número de especies parásitas fue observado en dos escolares del sexo masculino, uno de 8 y otro de 14 años de edad, dónde ambos presentaron hasta 9 especies parásitas diferentes.

El 83,1% de los escolares estudiados presentaban multiparasitismo con especies de protozoos, frente al 16,9% que presentaban monoparasitismo. Con mayor frecuencia se detectó 3 especies de protozoos (20,1%). El caso con mayor número de protozoos simultáneamente fue un niño de 8 años que presentó hasta ocho especies distintas de protozoos: *B. hominis*, *E. coli*, *E. hartmanni*, *E. hitolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*, *E. nana*, *G. intestinalis*, *C. mesnili* y *E. hominis*.

En lo que respecta a los helmintos, los resultados de multiparasitismo son diferentes ya que el monoparasitismo (90,1%) resultó superior al multiparasitismo

(9,9%). El número máximo de especies de helmintos encontradas simultáneamente fue de 2 especies (9,8%).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se consideró el multiparasitismo en relación al sexo, aunque el multiparasitismo más frecuente para el sexo masculino fue el de 3 especies parasitas (21,6%), mientras que en las niñas la forma de multiparasitismo más común fue el de 2 especies parasitas (19,4%).

Cuando se considera los grupos etarios, sí se observó diferencias significativas con el multiparasitismo ($p=0,009$). Así, para la franja etaria de 6 a 10 años de edad, lo más común fue la presencia de 4 especies parasitas simultáneamente (19,6%). Para los niños entre 11 y 13 años lo más común fue el multiparasitismo con 3 especies (22,0%); y para niños entre 14 y 18 años de edad, se detectó igual frecuencia de multiparasitismo tanto de 3 especies (21,7%), como de 5 especies parasitas (21,7%).

Considerando el grado escolar cursado, se encontró relación estadística ($p=0,010$), donde en 2º de Primaria lo más común fue la parasitación por 2 especies (22,7%); en 3º de Primaria, por 4 especies (22,2%); en 4º de primaria, por 5 especies (22,3%); y por último, hubo mayor frecuencia de 3 especies en 5º (23,8%) y en 6º de Primaria (26,2%).

Tipo de parasitismo	TOTAL ESTUDIO N=674			p-valor
	n	%	IC95%	
Monoparasitismo	104	16,2	13,4-19,3	0,000
Multiparasitismo	537	83,8	80,6-86,5	

Tabla 10.- Monoparasitismo y multiparasitismo en el total del estudio; N= número de escolares totales estudiados; n= valor absoluto; %= porcentaje del valor absoluto; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p<0,05$.

Nº de Especies	TOTAL ESTUDIO N=674		
	n	%	IC95%
0	33	4,9	3,3-6,8
1	104	15,4	12,7-18,3
2	112	16,6	13,8-19,6
3	130	19,2	16,3-22,4
4	111	16,4	13,7-19,4
5	99	14,6	12,1-17,5
6	54	8,0	6,0-10,3
7	22	3,2	2,0-4,9
8	7	1,0	0,4-2,1
9	2	0,3	0,0-1,0

Tabla 11.- Multiparasitismo en el total del estudio; N= número de escolares totales estudiados; n= valor absoluto de casos; %= frecuencia de casos; IC95%= intervalo de confianza del 95%.

3.3.- EN RELACIÓN A LAS ASOCIACIONES ENTRE ESPECIES PARASITAS

A continuación se muestra los resultados obtenidos a partir de la regresión logística en relación a posibles asociaciones entre las especies parasitas patógenas más representativas del estudio.

En la Tabla 12 se observa asociaciones positivas estadísticamente significativas entre los protozoos *B. hominis* y *E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*, y *G. intestinalis*, de forma que la prevalencia de una de ellas predispone la aparición de otra.

En relación a las infecciones por helmintos ninguna asociación resultó determinante para la infección por *A. lumbricoides*, *T. trichiura* o por especies de ancilostómidos.

	Especie en asociación	OR (IC95%)	p-valor
Protozoos			
<i>E. complex*</i>	<i>G. intestinalis</i>	1,4 (0,9-2,2)	0,080
	<i>B. hominis</i>	2,4 (1,0-5,3)	0,035
	<i>T. trichiura</i>	1,2 (0,0-0,2)	0,430
	<i>A. lumbricoides</i>	1,4 (0,7-2,7)	0,319
<i>B. hominis</i>	<i>E. complex*</i>	2,3 (1,0-5,3)	0,038
	<i>G. intestinalis</i>	4,4 (1,5-12,3)	0,005
	<i>T. trichiura</i>	2,6 (0,7-8,6)	0,113
	<i>A. lumbricoides</i>	1,5 (0,4-5,1)	0,498
<i>G. intestinalis</i>	<i>E. complex*</i>	1,4 (0,9-2,2)	0,082
	<i>B. hominis</i>	4,4 (1,5-12,4)	0,005
	<i>T. trichiura</i>	1,2 (0,6-2,1)	0,495
	<i>A. lumbricoides</i>	0,8 (0,6-2,1)	0,643
Helmintos			
<i>T. trichiura</i>	<i>E. complex*</i>	1,2 (0,7-2,1)	0,434
	<i>G. intestinalis</i>	1,2 (0,6-2,1)	0,481
	<i>B. hominis</i>	2,6 (0,8-8,8)	0,103
	<i>A. lumbricoides</i>	2,0 (0,9-4,3)	0,078
	Ancylostomidae gen. sp.	1,0 (NC)	(NC)
<i>A. lumbricoides</i>	<i>E. complex*</i>	1,3 (0,6-2,6)	0,378
	<i>G. intestinalis</i>	0,8 (0,3-1,7)	0,595
	<i>B. hominis</i>	1,4 (0,4-5,0)	0,518
	<i>T. trichiura</i>	2,0 (0,9-4,4)	0,081
	Ancylostomidae gen. sp.	14,7 (0,8-249,9)	0,062
Ancylostomidae gen. sp.	<i>T. trichiura</i>	1,0 (NC)	(NC)
	<i>A. lumbricoides</i>	15,5 (0,9-254,2)	0,054

Tabla 12.- Asociaciones entre especies parásitas; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; NC= valor no calculable; **E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*.

3.4.- EN RELACIÓN A LAS INTENSIDADES DE PARASITACIÓN

Se obtuvieron 674 muestras de escolares para su respectivo procesamiento mediante la técnica cuantitativa de Kato-Katz, a fin de obtener mayor información en relación a las especies de helmintos específicamente. De todas las muestras analizadas mediante esta técnica, 467 (69,2%) fueron negativas y 207 (30,7%) fueron positivas, número que concuerda con la baja prevalencia de helmintos encontrada mediante la técnica de concentración y cuyos resultados fueron mostrados anteriormente en el apartado 3.1 de esta Tesis.

La Tabla 13 muestra los resultados generales obtenidos por medio de la técnica de Kato-Katz. En ella se observa que la especie de helminto más encontrada fue *T. trichiura* (24,4%), seguida de *A. lumbricoides* (10,8%). El número más elevado de

Resultados

huevos por gramo de heces, como era de esperar, se observó en esta última especie, en el caso de una niña de 2º de Primaria con 9 años de edad, que presentó 51.264 huevos por cada gramo de heces (hgh).

Helmineto	TOTAL POBLACIÓN ESTUDIADA N=674				
	n (%)	Rango (hgh)		MA	MG
		mínimo	máximo		
<i>H. diminuta</i>	2 (0,2)	24	144	0,2	58,7
<i>H. nana</i>	2 (0,2)	384	696	1,6	516,9
<i>Taenia solium</i>	2 (0,2)	432	3.192	5,3	1.174,2
<i>T. trichiura</i>	165 (24,4)	24	720	25,5	63,5
<i>A. lumbricoides</i>	68 (10,8)	24	51.264	525,9	908,1
Ancylostomatidae gen. sp.	4 (0,5)	24	96	0,3	58,7

Tabla 13.- Especies de helmintos encontradas mediante la técnica de Kato-Katz; N= número de escolares totales estudiados; n= valor absoluto de escolares positivos; %= porcentaje de parasitación; Rango (hpg)= Rango de huevos por gramo de heces (valor mínimo y valor máximo encontrado); MA= Media Aritmética; MG= Media Geométrica.

Tal y como se comentó anteriormente en el apartado de Materiales y Métodos de esta Tesis (Capítulo 2), la O.M.S clasifica las parasitaciones según el número de huevos por gramo de heces en grados de intensidad de infección, lo que permite clasificar la infección por geohelmintos como infecciones de intensidades leve, moderada y alta.

Aplicando esta clasificación, se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla 14, en la cual se observa que la mayoría de las infecciones por geohelmintos fueron de intensidad leve. Tan solo *A. lumbricoides* alcanzó infección moderada (23,5%) e infección elevada (1,5%).

Helminto	Leve n (%)	Moderada n (%)	Elevada n (%)	TOTAL N
<i>T. trichiura</i>	165 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	165
<i>A. lumbricoides</i>	51 (75,0)	16 (23,5)	1 (1,5)	68
Ancylostomatidae gen. sp.	4 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	4

Tabla 14. - Grados de intensidad de infección para las tres especies de geohelminthos encontradas en el estudio, siguiendo clasificación de la O.M.S.; n= valor absoluto de escolares positivos; %= porcentaje de parasitación.

3.4.1.- POR SEXO

La Tabla 15 muestra los datos de intensidad en relación a los grados de infección para cada especie de geohelmintho encontrada según el sexo. Se observa que no hubo diferencia significativa en relación al sexo para ninguna de las tres especies de geohelminthos. Analizando con más detalle, para *A. lumbricoides* en infecciones leves, la mayoría de infectados son escolares del sexo masculino (8,4%) así como también en las infecciones moderadas (2,7%). En relación al helminto más prevalente del estudio, las infecciones leves de *T. trichiura* ocurrieron con mayores porcentajes en el sexo femenino (26,1%).

Intensidad de infección	Total		Sexo				p-valor
			Masculino		Femenino		
	n	%	n	%	n	%	
<i>T. trichiura</i>							
No infectados	509	75,5	255	77,2	254	73,8	0,300
Infección leve	165	24,4	75	22,7	90	26,1	
<i>A. lumbricoides</i>							
No infectados	606	89,9	293	88,7	313	90,9	0,550
Infección Leve	51	7,5	28	8,4	23	6,6	
Infección Moderada	16	2,3	9	2,7	7	2,0	
Infección Elevada	1	0,1	0	0,0	1	0,2	
Ancylostomatidae gen. sp.							
No infectados	670	99,4	328	99,3	342	99,4	0,967
Infección leve	4	0,5	2	0,6	2	0,5	

Tabla 15.- Grados de intensidad de las infecciones helmínticas por sexo; n= nº de casos; %= porcentaje del valor absoluto; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$.

3.4.2.- POR GRUPOS DE EDAD

La Tabla 16 muestra datos de intensidad en relación a los grados de infección para cada especie de geohelminto según el grupo de edad. Solamente hubo diferencia significativa según el grupo de edad, en las infecciones leves producidas por *T. trichiura* ($p=0,046$), siendo el grupo de edad con mayor número de infectados el de la franja etaria de 6 a 10 años (29,1%). En relación a *A. lumbricoides*, especie en la que se encontraron las tres intensidades de infección, se observó que para infecciones de intensidad leve, hubo mayor prevalencia en niños entre los 11 y 13 años de edad, mientras que en las infecciones moderadas fue mayor la prevalencia en escolares ubicados entre los 6 y 10 años.

Intensidad de infección	Total		Grupo de Edad						p-valor
			6-10		11-13		14-18		
	n	%	n	%	n	%	N	%	
<i>T. trichiura</i>									
No infectados	509	75,6	207	70,9	212	79,4	85	78,7	0,046
Infección leve	165	24,4	85	29,1	55	20,6	23	21,3	
<i>A. lumbricoides</i>									
No infectados	606	89,9	260	89,0	242	90,6	97	89,9	0,062
Infección Leve	51	7,6	18	6,2	23	8,6	10	9,2	
Infección Moderada	16	2,4	13	4,5	2	0,8	1	0,9	
Infección Elevada	1	0,1	1	0,3	0	0,0	0	0,0	
Ancylostomatidae gen. sp.									
No infectados	670	99,4	291	99,7	265	99,2	107	99,1	0,735
Infección leve	4	0,6	1	0,3	2	0,8	1	0,9	

Tabla 16.- Grados de intensidad de las infecciones helmínticas por grupos de edad; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; p-valor= nivel de significancia considerando $p<0,05$.

3.4.3.- POR GRADO ESCOLAR

La Tabla 17 muestra datos de intensidad en relación a los grados de infección para cada especie de geohelminto encontrada según el grado escolar. No hubo diferencia significativa en relación al grupo escolar para ninguna de las tres especies de geohelminthos.

Intensidad de infección	Total		Grado Escolar										p-valor
			2º		3º		4º		5º		6º		
	n	%	Primaria	Primaria	Primaria	Primaria	Primaria	Primaria	Primaria	Primaria	n	%	
<i>T. trichiura</i>													
No infectados	509	75,5	127	68,7	122	75,8	108	77,1	100	81,3	52	80,0	0,097
Infección leve	165	24,5	58	31,3	39	24,2	32	22,9	23	18,7	13	20,0	
<i>A. lumbricoides</i>													
No infectados	606	89,9	161	87,0	147	91,3	125	89,3	113	91,9	60	92,3	0,240
Infección Leve	51	7,6	14	7,6	9	5,6	14	10,0	10	8,1	4	6,2	
Infección Moderada	16	2,4	9	4,9	5	3,1	1	0,7	0	0,0	1	1,5	
Infección Elevada	1	0,1	1	0,5	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Ancylostomatidae gen. sp.													
No infectados	670	99,4	185	100	161	100	139	99,3	121	98,4	64	98,5	0,257
Infección leve	4	0,5	0	0,0	0	0,0	1	0,7	2	1,6	1	1,5	

Tabla 17.- Grados de intensidad de las infecciones helmínticas por grado escolar; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$.

Analizando con más detalle para *A. lumbricoides*, la mayoría de los casos de infección leve (10,0%) se dio en niños de 4º de Primaria, mientras que las infecciones moderadas ocurrieron con mayor frecuencia (4,9%) solamente en los escolares de 2º de Primaria. Observando los resultados para *T. trichiura*, las infecciones leves ocurrieron en mayor número (31,3%) en escolares que cursaban 2º de Primaria.

3.5- EN RELACIÓN A LA EOSINOFILIA

En este apartado se muestran los resultados obtenidos en relación a la eosinofilia. Más en concreto, en el presente estudio se pudo obtener datos sobre la eosinofilia en 178 escolares y se utilizó el valor de corte de 500/mm³ (GOTLIB, 2014).

Se detectó eosinofilia en 48 escolares (27,0%) frente a 130 (73,0%) que no la padecían y aunque son escasos los datos sobre la eosinofilia en relación al total de la muestras, se ha realizado un análisis a fin de observar diferencias entre sexos, grupos de edad y grado escolar.

3.5.1.- POR SEXO, GRUPOS DE EDAD Y GRADO ESCOLAR

La Tabla 18 muestra los resultados de los escolares con eosinofilia en relación al sexo, los grupos de edad y grado escolar. No se encontraron diferencias significativas en el grado de eosinofilia en función del sexo. De los escolares eosinofílicos, 24 de ellos (50,0%) eran del sexo masculino y otros 24 (50,0%) eran del sexo femenino.

Sí se detectó diferencia significativa ($p=0,034$) en el grado de eosinofilia entre los diferentes grupos de edad. El grupo de edad con mayor incidencia de eosinofilia fue el de 11 a 13 años (46,7%), seguido del grupo etario de 6 a 10 años (35,5%) y, por último, el grupo de escolares que tenían entre 14 y 18 años de edad (17,8%).

También se ha encontrado diferencia estadísticamente significativa en la eosinofilia detectada entre los diferentes grados escolares ($p=0,002$). De los escolares afectados por la eosinofilia, la mayoría se encontraban cursando 2º de Primaria (37,5%), seguidos por los de 5º de Primaria (33,3%), 4º Primaria (14,6%), 6º de Primaria (12,5%) y, por último, 3º de Primaria (2,1%).

3.5.2.- POR ESPECIE PARASITA

En este apartado se muestra los resultados obtenidos en relación a la distribución de la eosinofilia según las diferentes especies parasitas encontradas en el estudio.

Factor	Escolares con eosinofilia		Escolares sin eosinofilia		p-valor
	n	%	N	%	
Población Total	48	27,0	130	73,0	-
Sexo					
Femenino	24	50,0	69	53,5	0,679
Masculino	24	50,0	60	46,5	
Grupos de edad					
6-10	16	35,5	23	17,8	0,034
11-13	21	46,7	67	52,0	
14-18	8	17,8	39	30,2	
Grado escolar					
2º Primaria	18	37,5	17	13,1	0,002
3º Primaria	1	2,1	0	0,0	
4º Primaria	7	14,6	32	24,6	
5º Primaria	16	33,3	50	38,5	
6º Primaria	6	12,5	31	23,8	

Tabla 18.- Prevalencias de la eosinofilia en la población objeto de estudio por sexo, grupos de edad y grado escolar; n= valor absoluto; %= porcentaje del valor absoluto; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$.

3.5.2.1.- MEDIANTE PREVALENCIA DE PARASITACIÓN

En este apartado, se ha considerado las especies de forma individual, así como por grupos que puedan relacionarse con aumento de eosinófilos en sangre. Las especies consideradas de forma individual son: *G. intestinalis* (ROJAS *et al.*, 2010) y *T. trichiura* y *A. lumbricoides* (ESPINOZA *et al.*, 1999; ANANE, 2006; ROJAS *et al.*, 2010). En cambio, los grupos considerados son: presencia de protozoos en general; presencia de protozoos patógenos (grupo en el que se excluye a *B. hominis*); presencia de helmintos en general; presencia de por lo menos alguna especie parásita patógena (en la que se agrupan los protozoos y los helmintos, dejando excluido a *B. hominis*); y, finalmente presencia de multiparasitismo.

Las asociaciones positivas únicamente fueron estadísticamente significativas en el caso de la presencia de helmintos, la presencia de *T. trichiura* y la presencia de por lo menos una especie patógena (véase Tabla 19).

Resultados

Variable	Escolares con eosinofilia		Escolares sin eosinofilia		OR	p-valor
	n	%	n	%		
Protozoos patógenos						
Presencia	20	35,0	37	64,9	1,7	0,114
Ausencia	28	23,7	90	76,2		
Protozoos						
Presencia	46	27,7	120	72,2	1,3	0,719
Ausencia	2	22,2	7	77,7		
G. intestinalis						
Presencia	10	37,0	17	62,9	1,7	0,223
Ausencia	38	25,6	110	74,3		
Helmintos						
Presencia	13	50,0	13	50,0	3,2	0,005
Ausencia	35	23,4	114	76,5		
T. trichiura						
Presencia	9	60,0	6	40,0	4,6	0,003
Ausencia	39	24,3	121	75,6		
A. lumbricoides						
Presencia	5	50,0	5	50,0	2,8	0,099
Ausencia	43	26,0	122	73,5		
Parasito patógeno						
Presencia	28	40,5	41	59,4	2,9	0,001
Ausencia	20	18,8	86	81,1		
Multiparasitismo						
Presencia	39	27,5	101	72,1	1,1	0,837
Ausencia	7	25,9	20	74,0		

Tabla 19.- Distribución de eosinofilia según prevalencias de parasitación; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$.

3.5.4.2.- MEDIANTE INTENSIDAD PARASITARIA

Aquí se muestra los resultados obtenidos de la distribución de eosinofilia en función de la intensidad de parasitación. Tal y como se ha comentado previamente, la intensidad de parasitación fue calculada a partir del método de Kato-Katz (ver apartado 3.4.).

En la Tabla 20 se muestra detalladamente los resultados obtenidos. No hubo significancia estadística entre eosinofilia y alguna especie parasita, en ninguna de las intensidades. Sin embargo, cabe resaltar que 26,6% de niños con *A. lumbricoides* en

intensidad leve y 40,6% de los niños con *T. trichiura* en intensidad leve, presentaron eosinofilia.

Intensidad Parasitaria	Escolares con eosinofilia		Escolares sin eosinofilia		OR	p-valor
	n	%	n	%		
<i>T. trichiura</i>						
Leve	13	40,6	19	59,3	2,13	0,060
Moderada	0	0,0	0	0,0	NC	NC
Elevada	0	0,0	0	0,0	NC	NC
<i>A. lumbricoides</i>						
Leve	4	26,6	11	73,3	0,9	0,986
Moderada	1	100,0	0	0,0	NC	NC
Elevada	0	0,0	0	0,0	NC	NC
Ancylostomatidae gen. sp.						
Leve	0	0,0	0	0,0	NC	NC

Tabla 20.- Distribución de eosinofilia según intensidades de parasitación por geohelminetos; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$.

3.5.5.- GRAVEDAD DE LA EOSINOFILIA

La gravedad de la eosinofilia se divide en leve (valor superior a 500/ mm³ y hasta 1.500/ mm³), moderada (valor superior a 1.500 /mm³ y hasta 5.000 /mm³) y severa (valores superiores a 5.000 /mm³) (GOTLIB, 2014).

La Tabla 21 muestra la distribución por grados de gravedad de la eosinofilia. La intensidad más prevalente fue la intensidad leve (91% de los niños con eosinofilia), seguida de la eosinofilia de intensidad moderada (8,3% de los escolares eosinofílicos). No hubo presencia de eosinofilia de intensidad elevada.

INTENSIDADES EOSINOFILIA (N=48)			
Intensidad	n	%	IC95%
Leve	44	91,6	83,5-99,7
Moderada	4	8,3	0,22-16,4
Elevada	0	0,0	0

Tabla 21.- Distribución de la eosinofilia según sus grados de intensidad en los escolares del Colegio Nemba I, según la clasificación de la O.M.S. (GOTLIB, 2014), n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; IC95%= intervalo de confianza del 95%.

3.6.- EN RELACIÓN A LA ANEMIA

En este apartado se muestra todos los resultados obtenidos en relación a la anemia, considerada como otro indicador nutricional.

Dado que los niños habitan en varios sectores del distrito, y que el distrito tiene rangos de altura a nivel del mar de 1.700 a 2.700 metros, se aplicó un ajuste al nivel de hemoglobina de cada escolar debido a la elevada altitud (W.H.O., 2001; SULLIVAN *et al.*, 2008).

Se obtuvo, en total, los datos de hemoglobina de 661 escolares del Colegio Nemba I, donde se presenció una media de 13,5 g/dL del valor de hemoglobina y un rango que variaba entre 6,1 g/dL y 18,6 g/dL.

Se pudo clasificar a los estudiantes según la presencia o ausencia de anemia, utilizando los valores de corte recomendados conforme la edad y el sexo (W.H.O., 2001). En este estudio se usó el valor de corte de 11,5g/dL para escolares con edad comprendida entre los 5 y 12 años de edad y el valor de 12 g/dL para escolares con edad entre los 12 y 15 años. Este mismo valor se aplicó para niñas de edad superior a 15 años y el valor de 13 g/dL para varones con edad superior a 15 años (Tabla 22).

Edad	Valor de corte hemoglobina (g/dL)	
	Sexo masculino	Sexo femenino
5 a 12 años	11,5	11,5
12 a 15 años	12	12
> 15 años	13	12

Tabla 22.- Valores de corte de la hemoglobina (g/dL) distribuidos según la edad y el sexo.

Cabe decir además que de los escolares analizados: apenas 2 tenían valores de hemoglobina entre 6 y 7 g/dL; 3 tenían valores entre los 8 y 9 g/dL; 30 los tenían entre los 10 y 11 g/dL; 402 escolares entre 12 y 13 g/dL; 211 tenían valores entre 14 y 15 g/dL; y finalmente, 13 escolares tenían niveles de hemoglobina entre los 16 y 17 g/dL.

3.6.1.- POR SEXO, GRUPOS DE EDAD Y GRADO ESCOLAR

Teniendo como base los valores de corte, se obtuvo los resultados mostrados en la Tabla 23. Únicamente para la anemia, se consideró grupos de edad diferentes de los establecidos en lo restante del estudio, considerándose para la anemia los grupos de edad según los valores de corte utilizados.

Se observa en la población en general una baja prevalencia de la anemia (4,0%). Además, entre los escolares estudiados, no se detectan diferencias significativas entre sexo, entre grupos de edad, ni en el grado escolar. Sin embargo, se observa que de los escolares con anemia, la mayoría son niñas (57,7%), entre los 5 y 12 años (61,5%) y que cursan 2º Primaria (26,9%).

Factor	Escolares con anemia		Escolares sin anemia		p-valor
	n	%	N	%	
Población Total	26	3,9	630	96,0	-
Sexo					
Femenino	15	57,7	324	51,4	0,531
Masculino	11	42,3	306	48,6	
Grupos de edad					
5-12	16	61,5	461	73,4	0,178
12-15	10	38,5	149	23,7	
>15	0	0,0	18	2,9	
Grado escolar					
2º Primaria	7	26,9	173	27,4	0,960
3º Primaria	5	19,3	145	23,0	
4º Primaria	6	23,0	135	21,4	
5º Primaria	6	23,0	115	18,2	
6º Primaria	2	7,6	62	9,8	

Tabla 23.- Prevalencias del estado anémico en la población objeto de estudio por sexo, grupos de edad y grado escolar; n= valor absoluto; %= porcentaje del valor absoluto; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$.

3.6.2.- POR ESPECIE PARASITA

En este apartado se muestra los resultados obtenidos en relación a la distribución de la anemia según la parasitación encontrada en el estudio.

Resultados

3.6.2.1.- MEDIANTE PREVALENCIA DE PARASITACIÓN

A parte de observar esta distribución con diferentes especies parásitas, se ha considerado también grupos de parásitos que puedan estar relacionados con anemia.

La Tabla 24 muestra los resultados de este análisis, observándose que la mayoría de los escolares parasitados presentaron niveles de anemia muy bajos. Se observa, además, que no hubo diferencia estadísticamente significativa para la relación entre anemia y prevalencias de parasitación de forma individual, ni tampoco para ningún grupo de parásitos.

Variable	Escolares con anemia		Escolares sin anemia		OR	p-valor
	n	%	n	%		
Protozoos						
Presencia	24	3,9	585	96,0	1,47	0,704
Ausencia	1	2,7	36	97,3		
Protozoos patógenos						
Presencia	7	2,8	237	97,1	0,63	0,311
Ausencia	18	4,4	385	95,5		
Entamoeba complex*						
Presencia	6	4,2	137	95,8	1,11	0,815
Ausencia	19	3,7	485	96,2		
G. intestinalis						
Presencia	3	2,1	134	97,8	0,49	0,252
Ausencia	22	4,3	488	95,6		
Helminths						
Presencia	3	2,5	113	97,4	0,61	0,428
Ausencia	22	4,1	509	95,8		
T. trichiura						
Presencia	2	2,8	68	97,1	0,70	0,643
Ausencia	23	3,9	554	96,0		
A. lumbricoides						
Presencia	0	0,0	44	100,0	0,0	0,168
Ausencia	25	4,1	578	95,8		
Parasito patógeno						
Presencia	8	2,6	294	97,3	0,52	0,135
Ausencia	17	4,9	328	95,0		
Multiparasitismo						
Presencia	22	4,28	492	4,28	1,15	0,282
Ausencia	2	2,0	98	98,0		

Tabla 24.- Regresión logística de la anemia según prevalencias de parasitación; n= valor absoluto de escolares; %= porcentaje del valor absoluto; OR= Odds Ratio; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$. **E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*.

3.6.2.2- MEDIANTE INTENSIDAD PARASITARIA

En este apartado se muestra los resultados obtenidos de la anemia en función de la intensidad de parasitación. Tal y como se ha comentado previamente, la intensidad de parasitación fue calculada a partir del método de Kato-Katz (ver apartado 3.4.)

En la Tabla 25 se muestra los resultados relacionados con las prevalencias, Odds Ratio y p-valor, cuando se compara con niños control, sin parasitación. Se observa que no hubo diferencia significativa para ninguna de las intensidades detectadas en ninguno de los geohelminetos. Se observa, además, cómo la presencia de anemia en niños diagnosticados como parasitados con la técnica de Kato-Katz es prácticamente nula.

Intensidad Parasitaria	Escolares con anemia		Escolares sin anemia		OR	p-valor
	n	%	n	%		
<i>T. trichiura</i>						
Leve	6	3,8	152	96,2	0,93	0,885
Moderada	0	0,0	0	0,0	NC	NC
Alta	0	0,0	0	0,0	NC	NC
<i>A. lumbricoides</i>						
Leve	1	2,0	48	97,9	1,0	0,977
Moderada	0	0,0	15	100,0	NC	NC
Alta	0	0,0	1	100,0	NC	NC
Ancylostomatidae gen. sp.						
Leve	0	0,0	4	100,0	NC	NC

Tabla 25.- Distribución de la anemia según intensidades de parasitación por geohelminetos; n= valor absoluto; %= porcentaje del valor absoluto; OR= Odds Ratio; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; NC= valor no calculable debido a la presencia de valor nulo en el valor absoluto de escolares positivos (n).

3.7.- EN RELACIÓN AL ESTADO NUTRICIONAL

Un total de 673 escolares pudieron ser estudiados desde el punto de vista del peso, talla y edad. A partir de estos datos se pudo calcular los índices antropométricos.

3.7.1.- ESTADO NUTRICIONAL GENERAL

En este subapartado se muestra la situación de la población infantil estudiada en cuanto a los índices antropométricos: Talla para la Edad (T/E) (indicador de desmedro); Peso para la Edad (P/E) (indicador de bajo peso); e Índice de Masa Corporal para la Edad (IMC/E) (indicador de delgadez). De esta manera, con estos índices antropométricos se pudo valorar el estado nutricional en que se encontraban los escolares.

Estos índices son tratados a modo general, es decir se observa las prevalencias de los estados nutricionales a nivel global. A modo general, en la población estudiada, para el índice de T/E hubo una media de Puntajes Z de -1,5DS (Mín=-5,5; Máx=2,5). Para P/E, una media de -0,8DS (Mín=-4,9; Máx=2,0); y, por último, para el IMC/E, una media de -0,1DS (Mín=-3,6; Máx=5,5).

El desmedro global es el conjunto del desmedro moderado y del desmedro severo. El bajo peso global es el bajo peso moderado y el bajo peso severo cuando agrupados en conjunto y, lo mismo, en relación a la delgadez. Posteriormente en el siguiente apartado, se analiza estos problemas nutricionales de manera más detallada, mostrando las prevalencias de cada índice tanto a nivel moderado como severo.

Así, el desmedro, el bajo peso y la delgadez global ocurre cuando los Puntajes Z de dichos índices antropométricos fueron inferiores a -2 DS. Al desdoblarlo, el desmedro, el bajo peso y la delgadez moderada ocurren en aquel escolar que se encuentra a -2DS y que es mayor o igual a -3DS en los Puntajes Z de los índices antropométricos. Y el desmedro, el bajo peso y la delgadez severa ocurren cuando este Puntaje Z es inferior a -3DS.

La Tabla 26 muestra la distribución de las prevalencias de los índices antropométricos y consecuentes estados nutricionales. En la población infantil objeto de estudio prevalece el desmedro (32,8%), seguido del bajo peso con prevalencia acentuadamente menor (8,5%). La delgadez ha sido la condición nutricional antropométrica menos prevalente (2,1%).

Considerando la clasificación establecida por la O.M.S. (1995) para determinar la severidad del grado de desnutrición en una población, a nivel general, en cuanto al

desmedro y al bajo peso (Tabla 27), resulta que la población objeto de estudio presenta severidad alta de desnutrición por desmedro (32,8%) y severidad baja de desnutrición por bajo peso (8,5%).

Condición Nutricional	TOTAL POBLACIÓN ESTUDIADA		
	N=673		
	n	%	IC95%
T/E			
Desmedro global	221	32,8	29,2-36,3
Talla normal	452	67,2	63,6-70,7
P/E			
Bajo peso global	25	8,5	5,3-11,7
Peso Normal	268	91,5	88,2-94,6
IMC/E			
Delgadez global	14	2,1	0,9-3,1
IMC Normal	659	97,9	96,8-99,0

Tabla 26.- Porcentajes de los diferentes estados nutricionales en escolares del Colegio Nemba I; por índices antropométricos. N= número de individuos totales estudiados; n= valor absoluto; %= porcentaje del valor absoluto; IC95%= intervalo de confianza del 95%; T/E=Talla para la Edad; P/E=Peso para la Edad; IMC/E= Índice de Masa Corporal para la Edad.

Indicador nutricional	Severidad de la desnutrición			
	Baja	Media	Alta	Muy alta
Desmedro	<20	20-29	30-39	≥40
Bajo peso	<10	10-19	20-29	≥30

Tabla 27.- Severidad de la desnutrición por rangos de prevalencia para una población, según la O.M.S. No hay datos poblacionales en relación al grado de severidad del IMC/E, por lo que no aparece representado en esta tabla.

Resultados

3.7.1.1.- VALORACIÓN Y ANALISIS RESPECTO DE LA POBLACIÓN DE REFERENCIA

Se ha realizado un análisis de forma comparada para cada uno de los índices antropométricos considerados con la población de referencia establecida por la O.M.S. en 2007.

La Figura 22 muestra la distribución de la población objeto de estudio en relación a los Puntajes Z obtenidos para T/E, en comparación a la distribución de estos Puntajes en la población de referencia de la O.M.S.

La población estudiada está situada más a la izquierda que la población de referencia, lo que significa mayor presencia de desmedro (el desmedro se considera cuando el Puntaje Z es inferior a $<-2DS$).

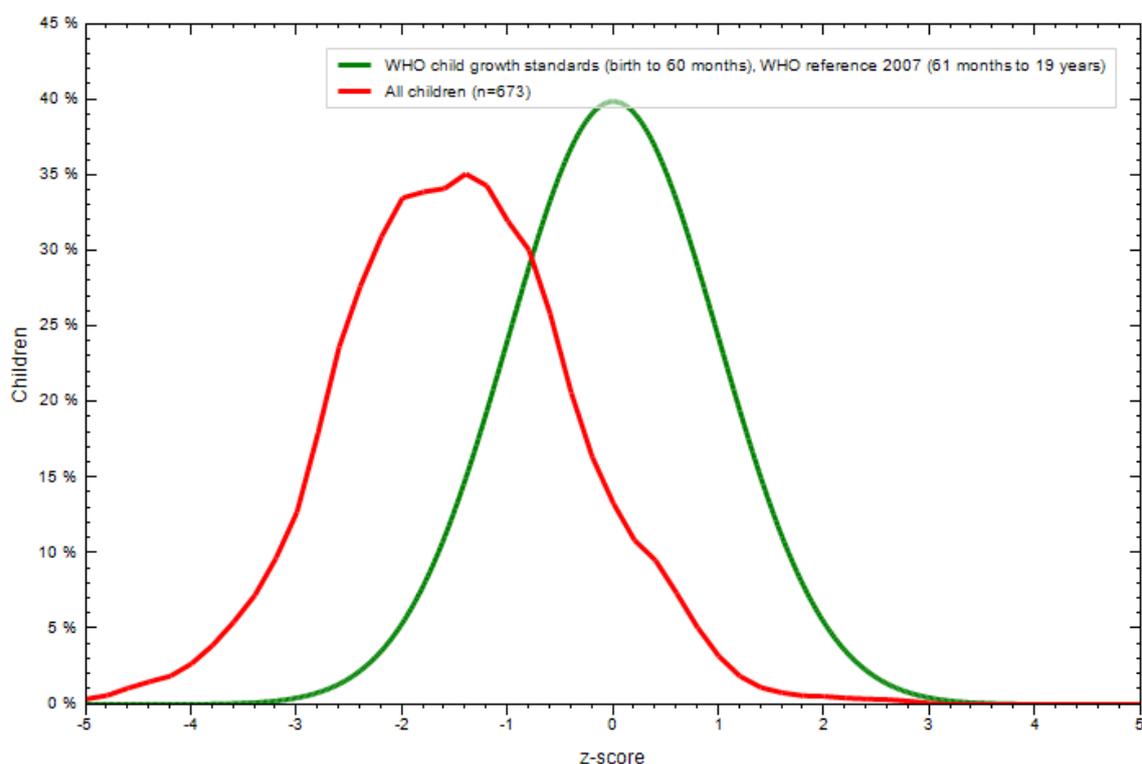


Figura 22.- Distribución de los Puntajes Z para T/E en los escolares del Colegio Nemba I, en comparación a la distribución en la población de referencia de la O.M.S. En el eje Y= porcentaje de niños; en el eje X= Puntaje Z (z-score). Imagen confeccionada a partir del programa nutricional WHO AnthroPlus.

La Figura 23 muestra la distribución de los Puntajes Z obtenidos para P/E en la población escolar del Colegio Nemba I, en comparación con la distribución de estos Puntajes en la población de referencia de la O.M.S. En este caso se observa que la distribución de estos Puntajes se sitúa desplazada un poco a la izquierda respecto de la población de referencia, aunque no de manera tan acentuada como en la distribución del índice antropométrico T/E. Este leve desvío hacia la izquierda representa mayor presencia del bajo peso en la población objeto de estudio, ya que el bajo peso se considera cuando el Puntaje Z es inferior a $<-2DS$.

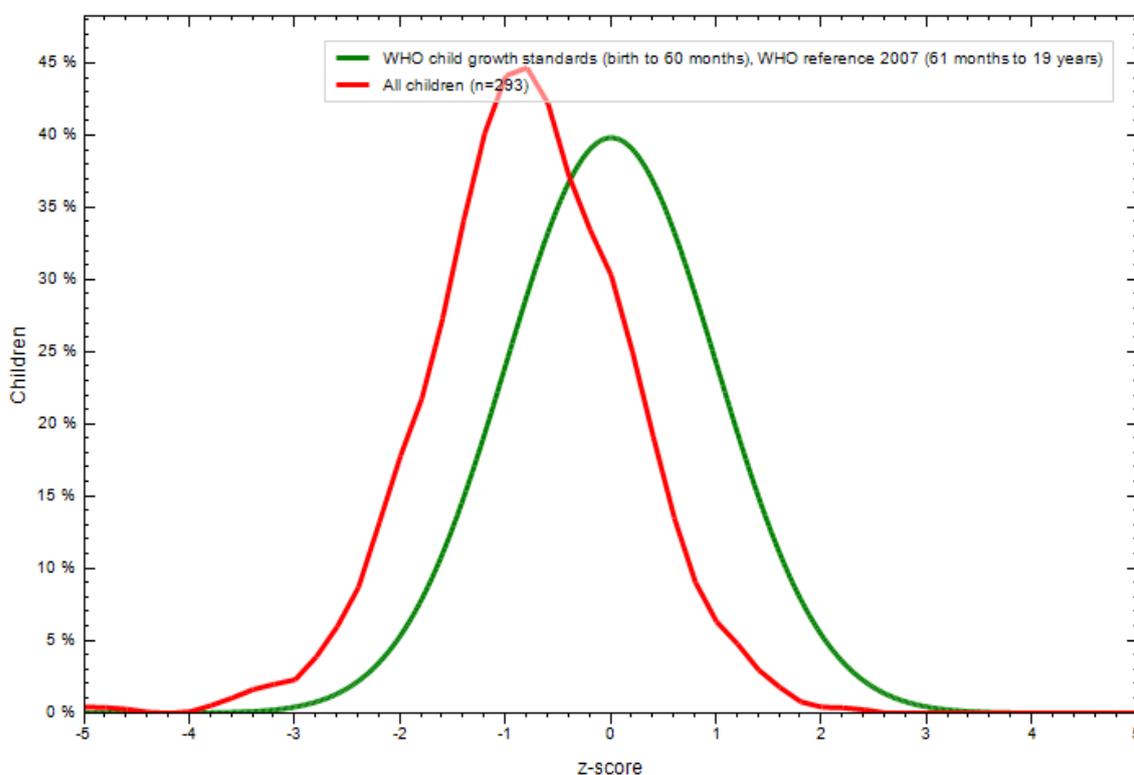


Figura 23.- Distribución de los Puntajes Z para P/E en los escolares del Colegio Nemba I, en comparación a la distribución en la población de referencia de la O.M.S. En el eje Y= porcentaje de niños; En el eje X= Puntaje Z (z-score). Imagen confeccionada a partir del programa nutricional WHO AnthroPlus.

La Figura 24 muestra la distribución de la población objeto de estudio en relación a los Puntajes Z obtenidos para IMC/E, en comparación con la distribución de estos puntajes en la población de referencia de la O.M.S. En concreto, la distribución de los Puntajes Z, en relación a IMC/E, coincide con la población de referencia, aunque

Resultados

el pico de la población estudiada es más elevado, lo que significa que hay mayor porcentaje de escolares en la mediana de la distribución que en la población de referencia.

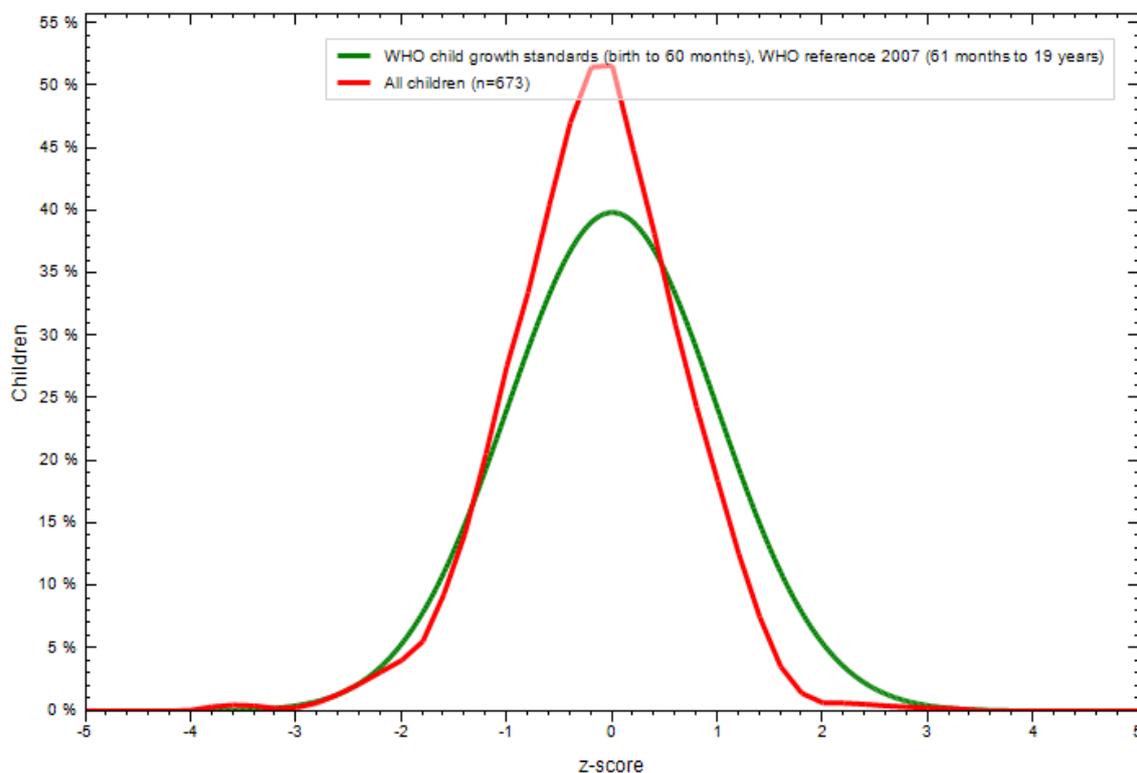


Figura 24.- Distribución de los Puntajes Z para IMC/E en los escolares del Colegio Nemba I, en comparación a la distribución en la población de referencia de la O.M.S. En el eje Y= porcentaje de niños; En el eje X= Puntaje Z (z-score). Imagen confeccionada a partir del programa WHO nutricional AnthroPlus.

3.7.1.2.- POR SEXO Y COMPARACIÓN RESPECTO DE LA POBLACIÓN DE REFERENCIA

La Tabla 28 muestra los resultados de la condición nutricional según el sexo. Se observa que ha habido diferencia significativa en el desmedro en función del sexo ($\chi^2=9,0$; $p=0,003$), donde 27,5% de las niñas presentó este tipo de desnutrición, mientras que en los niños la prevalencia de este índice alcanza el 38,4%. El desmedro fue el problema nutricional más elevado en ambos sexos.

También se analizó las distribuciones de los Puntajes Z para cada uno de los índices antropométricos por sexo, comparándolos a la vez, con la distribución de la población de referencia.

Indicador nutricional	Sexo				p-valor
	Masculino		Femenino		
	n	%	n	%	
T/E					
Desmedro global	127	38,4	94	27,5	0,003
Talla normal	204	61,6	248	72,5	
P/E					
Bajo Peso global	11	8,5	14	8,5	0,998
Peso Normal	118	91,5	150	91,5	
IMC/E					
Delgadez global	10	3,0	4	1,1	0,092
IMC Normal	321	97,0	338	98,9	

Tabla 28.- Estado nutricional por sexo en el Colegio Nemba I; n= valor absoluto; %= porcentaje del valor absoluto; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$.

La Figura 25 muestra la distribución de la población objeto de estudio según su sexo, en relación a los Puntajes Z obtenidos para T/E y la distribución de la población de referencia de la O.M.S., en relación a este índice nutricional. En concreto, se observa que la distribución de nuestra población está situada más a la izquierda que la población de referencia, tanto en el sexo masculino como en el femenino, aunque el sexo masculino se encuentra más desplazado hacia la izquierda. Todo ello viene a demostrar que entre los varones hay más desmedro que en las niñas.

En relación al sexo, la Figura 26 muestra la distribución y comparación con la población de referencia de los Puntajes Z para P/E. Se observa que la curva de los escolares del sexo masculino, así como la del sexo femenino, se encuentra levemente desviada hacia la izquierda con respecto a la población de referencia. Además, las curvas de ambos sexos coinciden bastante entre sí, aunque hay mayor pico en la curva del sexo femenino. Tanto los niños como las niñas presentan más prevalencias de bajo peso que la población de referencia.

Resultados

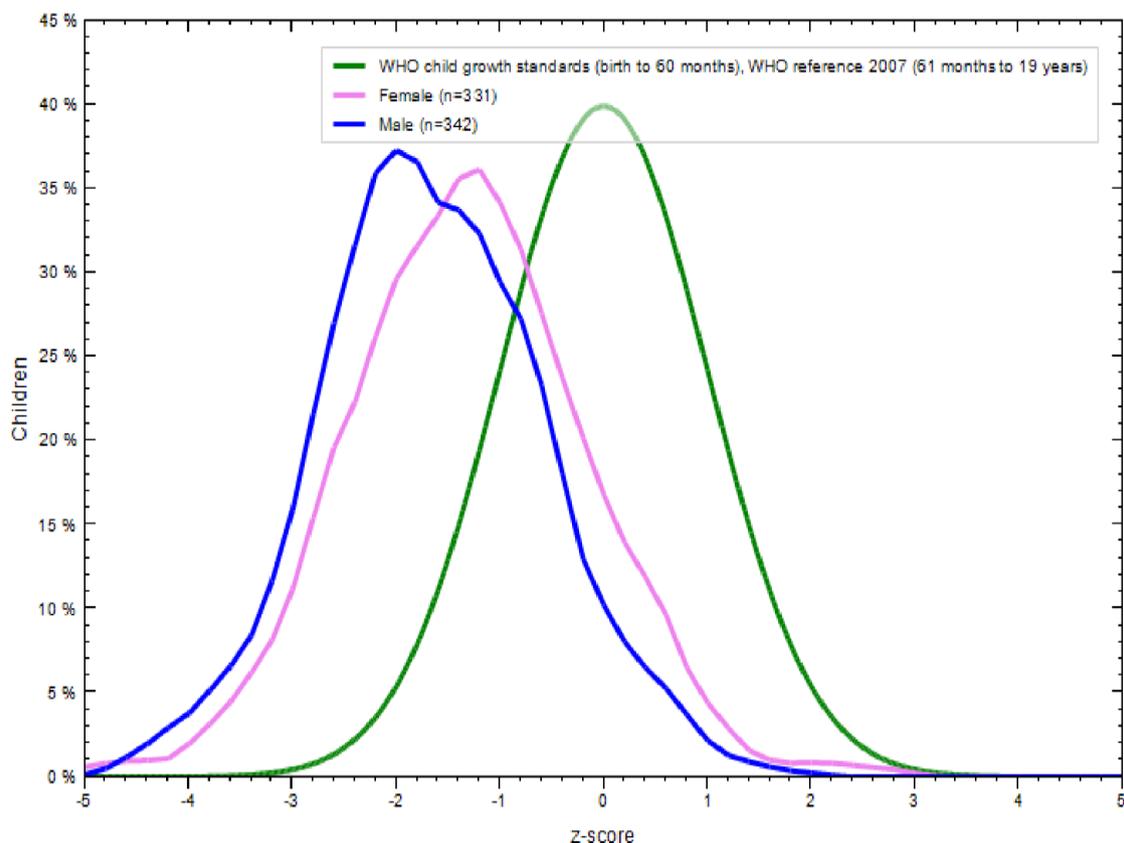


Figura 25.- Distribución de los Puntajes Z para T/E en los escolares del Colegio Nemba I, en comparación a la distribución en la población de referencia de la O.M.S., según el sexo. En el eje Y= porcentaje de niños; En el eje X= Puntaje Z (z-score). Imagen confeccionada a partir del programa nutricional WHO AnthroPlus.

Finalmente, y en relación al índice antropométrico IMC/E, se observa en la Figura 27 la distribución de los Puntajes Z en la población estudiada, comparada con la población de referencia, según el sexo. Se observa que tanto la curva de distribución del sexo masculino, como la curva del sexo femenino, coinciden bastante con la distribución de la población de referencia de la O.M.S. Sin embargo, se observa picos más elevados en las distribuciones de ambos sexos y esto se debe a que el mayor porcentaje de niños se encuentra en la mediana de cada distribución, por lo que las curvas son también ligeramente más estrechas comparadas con la curva de referencia.

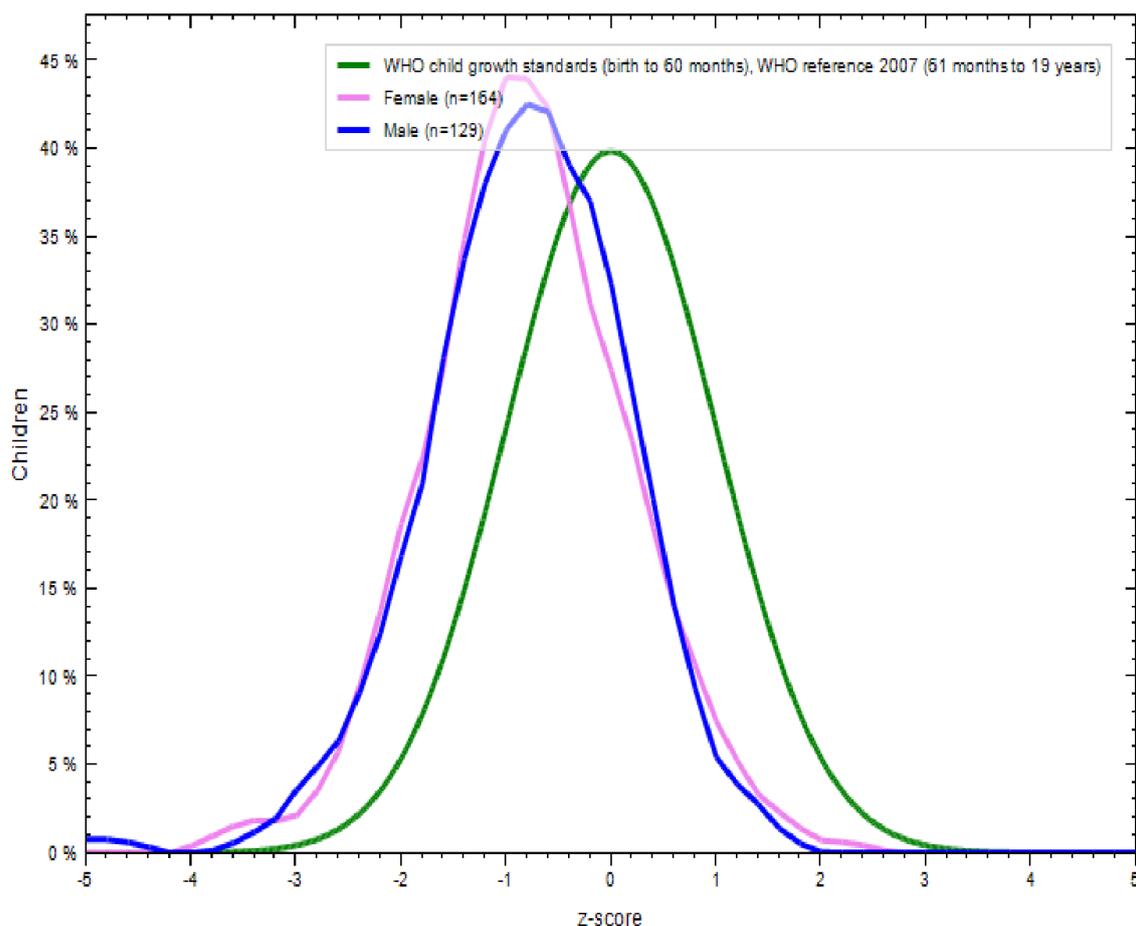


Figura 26.- Distribución de los puntajes Z, en relación a P/E según el sexo, en relación a la distribución de la población de referencia de la O.M.S. En el eje Y= porcentaje de niños; En el eje X=Puntaje Z (z-score). Imagen confeccionada a partir del programa AnthroPlus.

3.7.1.3.- POR GRUPOS DE EDAD

Los resultados respecto al grupo etario, y a la distribución de la desnutrición para cada índice antropométrico, pueden observarse en la Tabla 29. En dicha Tabla se muestra la distribución de los estados nutricionales según los índices antropométricos en relación a los grupos de edad.

El índice antropométrico P/E se calcula solamente en niños con un máximo de 10 años, considerando que a partir de esta edad, el índice ya no es buen indicador debido a cambios corporales y al crecimiento del individuo. Así, los niños con edad superior a 10 años no fueron incorporados en este análisis.

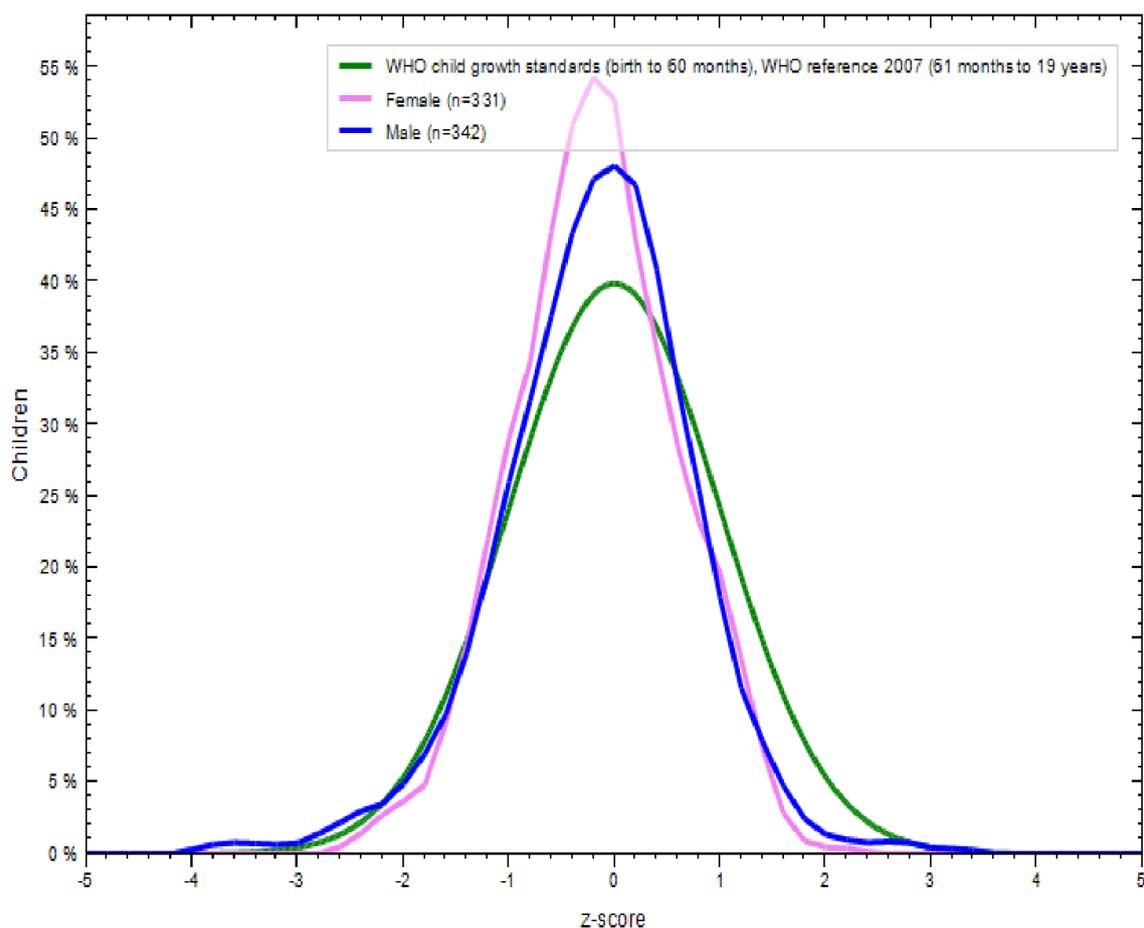


Figura 27.- Distribución de los puntajes Z, en relación a IMC/E según el sexo, en relación a la distribución de la población de referencia de la O.M.S. En el eje Y= porcentaje de niños; En el eje X=Puntaje Z (z-score). Imagen confeccionada a partir del programa AnthroPlus.

Se observa que únicamente hubo diferencia significativa ($\chi^2=14,6$; $p=0,001$) entre los grupos de edades para el índice de T/E, dónde el grupo con más desmedro fue el de los escolares con edades entre los 14 y los 18 años (44,1%), seguido de los escolares con edades comprendidas entre los 11 y 13 años (36,0%) y finalmente el grupo de edad comprendido entre los 6 y 10 años (25,6%).

Estado nutricional	Grupos de edad						p-valor
	6-10		11-13		14-18		
	n	%	n	%	n	%	
T/E							
Desmedro global	75	25,6	97	36,0	49	44,1	0,001
Talla normal	218	74,4	172	64,0	62	55,9	
P/E							
Bajo peso global	25	8,5	-	-	-	-	-
Peso normal	268	91,5	-	-	-	-	
IMC/E							
Delgadez global	4	1,4	5	1,9	5	4,5	0,135
Delgadez normal	289	98,6	264	98,1	106	95,5	

Tabla 29.- Estado nutricional por grupos de edad en el Colegio Nemba I, n= valor absoluto; %= porcentaje del valor absoluto; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$.

3.7.2.- ESTADO NUTRICIONAL EN DETALLE

Los índices antropométricos y los problemas nutricionales, de manera más detallada, se muestran ahora con la finalidad de mostrar los casos más extremos. De esta forma, se evidencia los diferentes grados de desmedro, de bajo peso y de delgadez de manera más específica, obteniendo los porcentajes de desnutrición más severa (véase Tabla 30).

Se alcanza situaciones graves en relación a la desnutrición, es decir, un desmedro severo en un 8,0% de los escolares, el bajo peso severo en un 1,7% y una delgadez severa en el 0,3%. Hay que señalar que 0,4% de los escolares presentaron sobrepeso, incluso un 0,3% presentaron obesidad.

3.7.3.- ESTADO NUTRICIONAL Y PARASITISMO INTESTINAL

En este apartado se muestra los resultados en relación a las posibles asociaciones entre la desnutrición y el parasitismo intestinal. Este análisis se hizo detalladamente a fin de observar tanto la relación entre la desnutrición y las prevalencias parasitarias, como la relación entre la desnutrición y las intensidades parasitarias.

Resultados

Estado nutricional	TOTAL POBLACIÓN ESTUDIADA		
	N=673		
	n	%	IC95%
T/E			
Desmedro severo	54	8,0	5,9- 10,0
Desmedro moderado	167	24,9	21,5- 28,0
Talla Normal	452	67,1	63,6- 70,7
P/E			
Bajo peso severa	5	1,7	0,0- 3,1
Bajo peso moderada	20	6,8	3,9- 9,7
Peso normal	261	88,4	85,4- 92,6
**	7	2,4	0,6- 4,1
IMC/E			
Delgadez severa	2	0,3	-0,1- 0,7
Delgadez moderada	12	1,8	0,7- 2,7
IMC Normal	654	97,2	95,9- 98,4
Sobrepeso	3	0,4	0,0- 0,9
Obesidad	2	0,3	0,1- 0,7

Tabla 30.- Estado nutricional en mayor detalle. N= número de individuos totales estudiados; n= valor absoluto; %= porcentaje de parasitación; IC95%= intervalo de confianza del 95%. **Escolares con este índice antropométrico elevado puede deberse como consecuencia del desmedro, por lo que se recomienda considerar individualmente en cada caso el IMC/E, a fin de ver si este el exceso de este índice se debe al desmedro.

3.7.3.1.- MEDIANTE PREVALENCIA DE PARASITACIÓN

En este apartado se muestra los resultados del estudio nutricional en relación a la presencia o ausencia de parásitos que puedan interferir en el estado nutricional de los escolares estudiados.

La Tabla 31 muestra los resultados obtenidos en relación al estado nutricional y las prevalencias de parasitismo, bien sea por grupos de parásitos o por cada especie individualmente.

En dicha Tabla se observa que el número de niños desmedrados, en relación a T/E, sobrepasa el de niños con talla normal cuando se da la parasitación por *E. vermicularis* (100% vs. 0%), *H. diminuta* (100% vs. 0%) y por *T. solium* (100% vs. 0%). Sin embargo, se observa similar el número de niños desmedrados, y con talla normal,

cuando hay parasitación por cualquier especie de helminto (44,1% vs. 55,8%), así como por *A. lumbricoides* (44,4% vs. 55,5%) y por *T. trichiura* (45,2% vs. 54,7%), en particular.

En relación a P/E, los niños parasitados por cualquier especie o grupo de especies y que presenten bajo peso, nunca sobrepasan al porcentaje de niños con peso normal. Lo mismo ocurre para IMC/E.

A fin de observar la existencia o no de asociaciones entre el estado nutricional y las parasitosis intestinales, se realizó una regresión logística univariante. Los resultados de esta regresión se muestran en la Tabla 32 para los tres índices antropométricos. En esta Tabla se observa que en relación a T/E solamente hubo asociación estadísticamente significativa para los helmintos en general ($p=0,003$), donde esta relación fue positiva ($OR=1,84$), es decir los helmintos en general suponen riesgo para T/E. En relación al índice antropométrico P/E, se observa que sólo hubo asociación estadísticamente significativa con la presencia de helmintos en general y, específicamente, con la parasitación por *A. lumbricoides* ($p=0,033$ y $p=0,013$, respectivamente) en concreto, los helmintos en general favorecen el riesgo para T/E, así como también *A. lumbricoides*. En cuanto al tercer índice antropométrico, no se encontró ninguna asociación estadísticamente significativa.

Teniendo en cuenta los resultados de la Tabla 32, solamente se ha podido realizar la regresión logística multivariante en relación a P/E y las variables de presencia de helmintos y de *A. lumbricoides*, a fin de ver los efectos de estas variables como conjunto. En este análisis, se observó que ambas variables en conjunto no interactúan entre sí, siendo que la asociación para los helmintos en general, en conjunto, fue positiva no significativa ($OR=1,10$; $p=0,708$); y para la presencia de *A. lumbricoides* la asociación fue negativa no significativa ($OR=0,60$; $p=0,233$). En este modelo de regresión, que incluye ambas variables, se realizó el test estadístico de Hosmer y Lemeshow, a fin de comprobar si el modelo propuesto explicaba o no la presencia de desnutrición. En este test no se rechazó la hipótesis nula (p de Hosmer y Lemeshow=0,999) lo que significa que este conjunto de variables se ajustan al modelo de regresión logística.

3.7.3.2.- MEDIANTE INTENSIDAD PARASITARIA

En este apartado se muestra los resultados obtenidos en relación a la distribución de la intensidad parasitaria de las especies de helmintos, en función de la desnutrición.

La Tabla 33 muestran los resultados de la regresión logística univariante. Cabe comentar que no se incluyeron los 4 casos de parasitación de intensidad leve por *Ancylostomatidae* gen. sp., quedando dicho estudio centrado en la parasitación por *A. lumbricoides* y *T. trichiura*. En esta Tabla se observa que para ninguna de las intensidades detectadas hubo asociación significativa, en las dos especies de geohelminto consideradas. Llama la atención que en las tres intensidades detectadas para *A. lumbricoides*, los porcentajes de desmedro sean bastante elevados e incluso se iguala en el de los niños con talla normal en intensidad moderada.

Con infecciones simples no se observó datos estadísticos significativos por lo que, teniendo en cuenta las condiciones en que viven los niños, se consideraron grupos de coinfecciones de diferentes intensidades, los cuales fueron asociados también con los datos nutricionales, a fin de ver el impacto de la coinfección en la desnutrición.

Así, se formaron dos grupos: uno con niños parasitados simultáneamente con *T. trichiura* leve y *A. lumbricoides* leve; y otro, con coinfección de *T. trichiura* leve y *A. lumbricoides* moderado o alto. La asociación entre estos grupos de coinfecciones y los índices antropométricos se muestra en la Tabla 34. El análisis de la Tabla permite observar que en escolares con infección simultánea de *T. trichiura* en intensidad leve y *A. lumbricoides* en intensidad leve, aparece diferencia significativa para el índice T/E ($p= 0,006$), al compararlos con escolares no parasitados. Además, esta asociación resultó positiva (OR=13,8).

En relación al otro grupo de coinfección, es decir, de escolares con parasitación simultánea de *T. trichiura* leve y *A. lumbricoides* moderado o alto, se detectó relación positiva (OR=10) y estadísticamente significativa ($p= 0,045$) con el índice T/E. También hubo asociación positiva (OR=8) con el índice P/E. Sin embargo no resultó estadísticamente significativa ($p= 0,079$).

Especies parásitas	Condición nutricional											
	T/E				P/E				IMC/E			
	Desmedro		Talla normal		Bajo peso		Peso normal		Delgadez		IMC Normal	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Protozoos	204	32,7	419	67,2	24	8,6	254	91,3	13	2,0	610	97,9
<i>Entamoeba coli</i>	124	32,8	253	67,1	13	7,9	151	92,0	6	1,5	371	98,4
<i>Entamoeba hartmanni</i>	130	34,5	254	65,3	12	7,8	140	92,1	8	2,1	367	97,8
<i>Entamoeba complex*</i>	48	33,3	96	66,6	4	8,6	60	93,7	3	2,0	141	97,9
<i>Endolimax nana</i>	193	32,1	407	67,8	22	8,2	244	91,7	12	2,0	588	98,0
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	68	37,9	111	62,0	6	8,1	68	91,8	3	1,6	176	98,0
<i>Giardia intestinalis</i>	53	32,5	87	62,1	10	13,5	64	86,4	3	2,1	137	97,8
<i>Chilomastix mesnili</i>	6	31,5	13	68,4	0	0,0	11	100	0	0,0	19	100
<i>Enteromonas hominis</i>	0	0,0	1	100	0	0,0	0	100	0	0,0	1	100
<i>Cryptosporidium</i> sp.	1	25,0	3	75,0	1	25,0	3	75,0	0	0,0	4	100
<i>Blastocystis hominis</i>	187	31,5	405	68,1	23	8,7	240	91,2	11	1,86	581	98,1
Protozoos patógenos	85	34,2	163	65,7	13	10,5	110	89,4	5	2,0	243	97,9
Helmintos	53	44,1	67	55,8	9	16,0	47	83,9	1	0,8	119	99,1
<i>Hymenolepis diminuta</i>	1	100	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	100
<i>Hymenolepis nana</i>	1	50,0	1	50,0	0	0,0	1	100	0	0,0	2	100
<i>Taenia solium</i>	2	100	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	100
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	100	0	0,0	1	100	0	0,0	0	0,0	1	100
<i>Trichuris trichiura</i>	33	45,2	40	54,7	5	16,1	26	83,8	0	0,0	73	100
<i>Ascaris lumbricoides</i>	20	44,4	25	55,5	6	22,2	21	77,7	1	2,2	44	97,7
Ancylostomidae gen. sp.	0	0,0	2	100	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	100
Multiparasitismo	177	33,5	350	66,4	21	8,9	214	91,0	9	1,7	518	98,2
Parásito Patógeno	112	36,1	198	63,8	18	11,7	135	88,2	6	1,9	304	98,0
Protozoos y helmintos	204	32,5	422	67,4	24	8,5	257	91,4	13	2,0	613	97,9

Tabla 31.- Estado nutricional por diferentes prevalencias de parasitación; n= valor absoluto; %= porcentaje del valor absoluto; **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

Resultados

Variable en asociación	Condición nutricional					
	T/E		P/E		IMC/E	
	OR (IC95%)	p-valor	OR (IC95%)	p-valor	OR (IC95%)	p-valor
Protozoos	1,15 (0,55-2,37)	0,704	0,94 (0,11-7,69)	0,958	1 (NC)	NC
<i>Entamoeba coli</i>	1,03 (0,74-1,43)	0,842	0,81 (0,35-1,84)	0,617	0,63 (0,211-	0,423
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1,24 (0,89-1,73)	0,189	0,81 (0,35-1,85)	0,631	1,22 (0,39-3,77)	0,729
<i>Entamoeba complex*</i>	1,04 (0,70-1,54)	0,826	0,64 (0,21-1,95)	0,442	1,07 (0,29-3,96)	0,912
<i>Endolimax nana</i>	0,81 (0,47-1,42)	0,479	0,60 (0,16-2,18)	0,439	1,20 (0,15-9,42)	0,860
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	1,39 (0,97-1,99)	0,071	0,91 (0,34-2,37)	0,847	0,80 (0,21-2,95)	0,741
<i>Giardia intestinalis</i>	1,34 (0,91-1,98)	0,134	2,08 (0,89-4,86)	0,090	1,11 (0,30-4,11)	0,868
<i>Chilomastix mesnili</i>	0,95 (0,35-2,54)	0,925	1 (NC)	NC	1 (NC)	NC
<i>Enteromonas hominis</i>	1 (NC)	NC	1 (NC)	NC	1 (NC)	NC
<i>Cryptosporidium</i> sp.	0,68 (0,07-6,65)	0,747	3,62 (0,36-36,2)	0,273	1 (NC)	NC
<i>Blastocystis hominis</i>	0,66 (0,35-2,54)	0,112	1,15 (0,25-5,17)	0,856	0,62 (0,13-2,87)	0,546
Protozoos patógenos	1,13 (0,80-1,58)	0,479	1,51 (0,66-3,45)	0,321	1,03 (0,33-3,21)	0,947
Helmintos	1,84 (1,23-2,76)	0,003	2,59 (1,08-6,23)	0,033	0,36 (0,04-2,87)	0,341
<i>Hymenolepis diminuta</i>	1 (NC)	NC	1 (NC)	NC	1 (NC)	NC
<i>Hymenolepis nana</i>	2,07 (0,12-33,3)	0,606	1 (NC)	NC	1 (NC)	NC
<i>Taenia solium</i>	1 (NC)	NC	1 (NC)	NC	1 (NC)	NC
<i>Enterobius vermicularis</i>	1 (NC)	NC	1 (NC)	NC	1 (NC)	NC
<i>Trichuris trichiura</i>	1,83 (1,12-3,00)	0,016	2,28 (0,79-6,60)	0,126	1 (NC)	NC
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1,72 (0,93-3,17)	0,081	3,65 (1,31-10,1)	0,013	1,14 (0,14-8,98)	0,900
Ancylostomidae gen. sp.	1 (NC)	NC	1 (NC)	NC	1 (NC)	NC
Multiparasitismo	1,36 (0,84-2,20)	0,199	1,37 (0,39-4,81)	0,620	0,41 (0,12-1,38)	0,152
Parásito patógeno	1,35 (0,97-1,88)	0,067	2,45 (0,99-6,07)	0,052	0,96 (0,32-2,90)	0,953
Protozoos y helmintos	1,13 (0,80-1,58)	0,977	0,74 (0,08-6,25)	0,790	1 (NC)	NC

Tabla 32.- Regresión logística de los índices nutricionales con las diferentes prevalencias de parasitación; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; NC= valor no calculable debido a la presencia de valor nulo en el valor absoluto de escolares positivos (n); **E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*.

En relación al IMC/E, se observa que los resultados no fueron muy llamativos, debido a que los escolares coinfectados y los del grupo control, casi no tuvieron representación para este índice antropométrico.

3.8.- EN RELACIÓN A LOS FACTORES EXTRÍNSECOS

En este apartado se muestra los resultados que se ha obtenido en relación a los elementos extrínsecos del estudio, obtenidos a partir de las encuestas socioeconómicas y de hábitos de higiene personal que podrían relacionarse con las

parasitosis intestinales detectadas. En total, para realizar este estudio se obtuvieron 673 encuestas con los factores de riesgo y hábitos higiénicos debidamente cumplimentados.

3.8.1.- DESCRIPCIÓN GENERAL DE LAS CONDICIONES SOCIOECONOMICAS

Se realiza en este subapartado, una descripción general de las condiciones socioeconómicas en el total de la población infantil estudiada, a fin de comprender el ambiente y calidad de vida en que viven.

3.8.1.1.- CONDICIONES FAMILIARES

La ausencia de cualquiera de los padres acarrea mayor inestabilidad familiar y menor calidad de vida, por lo que se considerará esta ausencia como posible factor de riesgo para las parasitaciones intestinales.

Se encontró que el padre había fallecido en 85 escolares (12,6%), mientras que 585 (87,3%) escolares aún tenían padre. En relación a las madres, en 17 escolares (2,5%) la madre había fallecido y para 650 (97,4%) la madre estaba viva.

De los niños que tenían aún padre y/o madre, se analizó el tipo de trabajo al que éstos se dedicaban, clasificando el tipo de actividad laboral en tres sectores: el sector primario, correspondería a actividades ejercidas por el padre o madre transformando recursos naturales en recursos primarios no elaborados (agricultura, ganadería, etc.); el sector secundario agrupa las actividades laborales relacionadas con la transformación de la materia prima en productos de consumo (artesanía, construcción, minería, etc.); y el sector terciario envuelve dedicaciones laborales relacionadas con servicios en general (enseñanza, comercio, funcionarios públicos, etc.).

Intensidad de parasitación por helmintos	Condición nutricional																	
	T/E				OR (IC95%)	p-valor	P/E				OR (IC95%)	p-valor	IMC/E				OR (IC95%)	p-valor
	Desmedro		Talla normal				Bajo Peso		Peso normal				Delgadez		IMC Normal			
	n	%	n	%	n	%	N	%	n	%	n	%						
A. lumbricoides																		
Intensidad leve	20	40,0	30	60,0	1,94 (0,77-4,98)	0,120	1	5,5	17	94,4	1 (NC)	NC	2	4,0	48	96,0	2,08	0,546
Intensidad moderada	8	50,0	8	50,0	1,66 (0,33-8,56)	0,476	4	30,7	9	69,2	1 (NC)	NC	0	0,0	16	100	NC (NC)	NC
Intensidad alta	1	100	0	0,0	NC (NC)	NC	1	100	0	0,0	NC (NC)	0,157	0	0,0	1	100	NC (NC)	NC
T. trichiura																		
Intensidad leve	65	40,1	97	59,8	1,54 (0,95-2,52)	0,062	12	14,1	73	85,8	1,56 (0,50-5,30)	0,397	3	1,85	15 9	98,1	0,73 (0,10-4,40)	0,683
Intensidad moderada	0	0,0	0	0,0	NC	NC	0	0,0	0	0,0	NC	NC	0	0,0	0	0,0	NC	NC
Intensidad alta	0	0,0	0	0,0	NC	NC	0	0,0	0	0,0	NC	NC	0	0,0	0	0,0	NC	NC

Tabla 33.- Regresión logística de los índices nutricionales por intensidad de parasitación; n= valor absoluto; %= porcentaje del valor absoluto; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; NC= valor no calculable debido a la presencia de valor nulo en el valor absoluto de escolares positivos (n).

Coinfección	Condición Nutricional																	
	T/E				OR	p-valor	P/E				OR	p-valor	IMC/E					
	Desmedro		Talla normal				Bajo peso		Peso normal				Delgadez		IMC Normal		OR	p-valor
	n	%	n	%			n	%	n	%			n	%	n	%		
<i>T. trichiura</i> leve + <i>A. lumbricoides</i> leve	8	42,1	11	57,8	13,8	0,006	0	0,0	8	100,0	NC	NC	0	0,0	19	100,0	NC	0,323
Escolares no parasitados	1	5,0	19	95,0			0	0,0	18	100,0			1	5,0	19	95,0		
<i>T. trichiura</i> leve + <i>A. lumbricoides</i> moderado o alto	5	55,5	4	44,4	10	0,045	4	50,0	4	50,0	8	0,079	0	0,0	9	100,0	NC	NC
Escolares no parasitados	1	11,1	8	88,8			1	11,1	8	88,8			0	0,0	9	100,0		

Tabla 34.- Regresión logística de los índices nutricionales por grupos de coinfección por intensidad de parasitación; n= valor absoluto; %= porcentaje del valor absoluto; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; NC= valor no calculable debido a la presencia de valor nulo en el valor absoluto de escolares positivos (n).

Se supone que el sector primario es el que supone mayor riesgo de parasitación ya que es el sector con probablemente menor renta familiar, tratándose de agricultura de subsistencia, lo conlleva a una menor calidad de vida. Además, muchas de las actividades relacionadas con este sector pueden implicar mayor parasitación debido a que implican estar directamente en contacto con los suelos y con los animales.

De esta manera, y teniendo en cuenta esta agrupación laboral, se pudo observar que 307 escolares (52,5%) tenían al padre trabajando en el sector primario, 110 (18,8%) en el sector secundario y 168 (28,7%) en el sector terciario. En relación al sector laboral de las madres, en 565 escolares (86,8%) la madre trabajaba en el sector primario, en 7 (1,1%) en el sector secundario y en 79 (12,1%) en el sector terciario.

3.8.1.2.- CONDICIONES DE VIVIENDA

Aquí se describen las condiciones generales de las viviendas en que viven los escolares. En relación al suelo de las viviendas, 549 escolares (81,6%) tenían suelo de tierra en sus casas, mientras que 124 escolares (18,4%) lo tenían de cemento. El suelo de tierra es más propenso a causar parasitación intestinal, especialmente en el caso de los geohelminos. Posteriormente, en este trabajo, y considerando los resultados parasitológicos, se distinguirá si el suelo de tierra en la vivienda es factor de riesgo para la parasitación intestinal.

También se tuvo en cuenta en este estudio la presencia de animales en las casas, a fin de comprobar si la presencia de éstos suponía un factor de riesgo de parasitación intestinal, teniendo en cuenta que varias especies parásitas encontradas en este estudio son antropozoonóticas. Del total de escolares, 592 (88%) tenían animales en sus casas y 81 (12,0%) no tenían. De los escolares que tenían animales, 470 (69,8%) tenían vacas, 171 (25,4%) tenían cabras, 139 (20,6%) tenían ovejas, 46 (7,7%) escolares tenían en sus casas gallinas o pollos, 36 (6,0%) poseían cerdos, 11 (1,8%) tenían conejos y 2 (0,3%) tenían ratones. Además, debido a esta gran variedad de tipos de animales, se consideraron grupos de animales para los análisis posteriores: suidos, bóvidos, gallináceas y roedores.

Como en muchas ocasiones los escolares tenían más de un tipo de estos animales, se tuvo en cuenta la cantidad de tipos de animales que estos escolares tenían en sus casas: 370 escolares (62,5%) tenían un tipo de animal; 168 (28,3%) dos tipos de animales; 37 (7,9%) tenían en sus casas tres tipos de animales diferentes; y 7 (1,1%) hasta cuatro tipos de animales.

Se observó que los animales solían estar fuera de las casas durante el día, mientras que por la noche, estos animales se guardaban dentro de la vivienda. También se contabilizó que 173 escolares (30,4%) guardaban sus animales dentro de casa por las noches, mientras que 395 (69,5%) los mantenían fuera de la casa.

De esta manera, los datos de presencia de animales en las viviendas y que se guardaran los animales dentro de casa durante las noches, fueron analizados para comprobar si podrían ser factores de riesgo para la ocurrencia de las parasitosis intestinales.

3.8.1.3.- ELIMINACIÓN DE EXCRETAS

Se consideró una eliminación de excretas adecuada cuando se hace uso del inodoro para recoger y descartar los excrementos, mientras que una eliminación de excretas inadecuada es cuando se realiza uso de letrinas, bien sean letrinas familiares o comunitarias.

Se encontró que 659 escolares (98,1%) utiliza letrinas y solamente 12 (1,7%) tienen acceso al inodoro. Se analizará si el uso de letrinas representa o no un factor de riesgo de parasitosis intestinales.

3.8.1.4.- AGUA DE CONSUMO

Como se desconoce la calidad del agua, tanto de las fuentes como la del abastecimiento en el hogar, es difícil considerar cuál de las dos posibilidades podría ser considerada como factor de riesgo. Se encontró que para 603 escolares (89,6%), el agua provenía de fuentes; para 1 escolar el agua provenía del río; y solamente 69

Resultados

niños (10,2%) tenían abastecimiento de agua en el hogar. Sin embargo, se obtuvo información en relación a si en las casas de los escolares se tenía costumbre o no de hervir el agua antes de su consumo. Así, 163 niños (24,2%) hierven siempre el agua para después beberla y 509 (75,7%) no la hierven. Por ello, también se consideró el hecho de no hervir el agua antes de beber, como posible factor de riesgo para la presencia de parásitos intestinales.

3.8.1.5.- CONDICIONES ALIMENTARIAS

La falta de cocción de los vegetales, especialmente en un lugar dónde las condiciones sanitarias son precarias, podría estar relacionado con las infecciones intestinales, por lo que se considera esta variable como posible factor de riesgo para estas infecciones.

En este apartado, se tiene en cuenta los cuidados que se tienen con los alimentos y la frecuencia de consumo de algunos de ellos. Así, 662 escolares (98,1%) no suelen comer vegetales cocidos, mientras que 10 (1,4%) comen los vegetales cocidos.

3.8.1.6.- HIGIENE Y CUIDADOS PERSONALES

El uso de calzado debe tenerse en cuenta, ya que parásitos como los de la familia Ancylostomatidae penetran por la piel cuando el pie descalzo tiene contacto con suelos contaminados. Por ello, se ha considerado esta variable como posible factor de riesgo para la infección con parásitos intestinales. Así, 277 niños (41,3%) usaban calzado siempre fuera de casa y 394 (58,7%) no siempre. Del total de niños, también 175 (32,9%) utilizan también calzado en la vivienda y sus alrededores, mientras que 356 (67,0%) no lo hacían.

Considerando estas variables en relación al lavado de manos, debe considerarse que las parasitosis intestinales están altamente relacionadas con las manos sucias. Por ello, se ha considerado como posible factor de riesgo para las parasitosis intestinales la falta de lavado de manos, tanto antes de comer como después de ir al baño. Además,

en caso de que ocurra el lavado de manos, se ha contemplado si este lavado se hace con o sin jabón.

En relación al lavado de manos, 166 escolares (24,7%) no se lavan las manos antes de comer, mientras que 507 (75,3%) sí lo hacen. De estos niños que se lavan las manos antes de comer, 181 (35,7%) acostumbran a hacerlo con jabón y 326 (64,3%) no lo utilizan. Del total de escolares, 443 (66,0%) no se lavan las manos después de ir al baño, mientras que 229 (34,0%) sí tienen esta costumbre. De estos escolares que se lavan las manos, 51 (22,2%) no utilizan jabón y 178 (77,7%) sí lo hacen.

Un último punto dentro de este subapartado, es el baño diario. Del total del estudio, 172 (25,6%) estudiantes se bañan diariamente, mientras que 501 (74,4%) no se bañan a diario (217 escolares lo hacen de 2 a 3 veces por semana, 279 apenas una vez por semana y 5 se bañan solamente una vez al mes). Del total del estudio, 658 escolares (97,8%) utilizan jabón cuando se bañan y 15 (2,2%) no lo utilizan. Teniendo en cuenta estas variables, relacionadas con el baño diario, debe considerarse que la falta de higiene personal favorece la presencia de especies parasitas, por lo que más adelante se analizará si la falta de baño diario, y la no utilización del jabón en el aseo personal, pueden ser consideradas como factores de riesgo para la presencia de parásitos intestinales.

3.8.2.- EN RELACIÓN AL PARASITISMO INTESTINAL

En este apartado se relatan las relaciones encontradas entre el parasitismo y las condiciones socioeconómicas descritas en el apartado anterior, para comprobar si provocan o no las parasitaciones intestinales.

3.8.2.1- ANÁLISIS LOGÍSTICO UNIVARIANTE

A) CONDICIONES FAMILIARES

En relación a las condiciones familiares y las parasitosis, se parte de los 5 grupos considerados anteriormente (protozoos en general, helmintos en general, protozoos patógenos, parásito patógeno y multiparasitismo) como aquellas especies patógenas más prevalentes y representativas. La Tabla 34 muestra los resultados del análisis estadístico en relación a la presencia o ausencia del padre y la madre en el núcleo familiar del escolar. Se observa, que la ausencia de padre o madre en la familia no implica un factor de riesgo para las parasitosis intestinales. Las prevalencias entre las parasitaciones y la presencia o ausencia de padre o madre son bastantes similares entre sí.

Aunque no se observó ninguna asociación estadísticamente significativa, sí se observó asociación positiva entre la ausencia de padre y la parasitación por *G. intestinalis*, por helmintos en general, por parasitación individual de *A. lumbricoides*, de *T. trichiura* y por la parasitación por cualquier especie patógena.

Por su parte, la ausencia de madre, también resultó en asociación positiva pero no estadísticamente para la parasitación por *E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii* y por *T. trichiura*.

La Tabla 35 muestra la distribución de datos según el sector laboral del padre, así como los cálculos asociativos considerándose esta relación. Se observa que no hubo ninguna asociación significativa cuando el padre trabaja bien en el sector primario o en el terciario. Sin embargo, sí la hubo en el sector secundario, donde se encontró una relación negativa y significativa para los protozoos. Así, el hecho de que el padre estuviese implicado laboralmente en el sector secundario disminuye el riesgo para las infecciones por protozoos intestinales (OR=0,39; p=0,019). De esta forma se explica que los escolares con padres en este sector tuvieran porcentaje de prevalencia del 90,7%, inferior a la encontrada en escolares cuyos padres participaban en otros sectores laborales (96,1%). Sin embargo, en este sector secundario se detectó relación positiva significativa para la parasitación por *A. lumbricoides* (OR=2,11; p=0,037),

apareciendo mayor porcentaje de niños parasitados (11,1%) que en los otros sectores considerados en conjunto (5,6%).

La Tabla 36 representa los resultados obtenidos en relación a la parasitación intestinal y el sector laboral de la madre. El hecho que la madre del escolar participase en el sector primario resulta factor de riesgo significativo para la parasitación por helmintos en general (OR=2,30; p=0,026) y para la parasitación por especies patógenas (OR=1,64; p=0,037). Sin embargo, se detectan asociaciones negativas estadísticamente significativas cuando las madres se dedicaban al sector secundario y terciario, resultando como factor protector frente a la parasitación de protozoos en general (OR=0,07; p=0,00), de parasitación por helmintos (OR=0,41; p=0,026) donde 91% de los niños cuyas madres participaban en el sector terciario fueron negativos para estos parásitos intestinales y de parasitación por cualquier especie patógena (OR=0,71; p=0,036).

B) CONDICIONES DE VIVIENDA

La Tabla 37 muestra la distribución de los escolares parasitados y no parasitados en relación al tipo de suelo de la vivienda y a la presencia de animales en dicha vivienda. Observando el tipo de suelo, se observa que el suelo de tierra resulta ser factor de riesgo para la infección por helmintos en la población infantil estudiada (OR=2,87; p=0,001), explicando que el 20,4% de niños con viviendas de suelo de tierra estuvieran parasitados frente a los niños con viviendas de suelo de cemento (8,2%). El suelo de tierra fue a su vez factor de riesgo para la infección cuando se consideraron individualmente las especies *A. lumbricoides* (OR=3,35; p=0,034) y *T. trichiura* (OR=2,29; p=0,038).

A pesar de que no aparezca valor estadísticamente significativo en ninguno de los análisis estadísticos realizados, ni con grupos de parásitos, ni con especies patógenas individualmente, se observa que el suelo de tierra se asocia positivamente en todos los casos, ya que el Odds Ratio resultante es superior a 1 en todos los casos.

Variable	Padre				OR (IC95%)	p-valor	Madre				OR (IC95%)	p-valor
	Vivo		Fallecido				Viva		Fallecida			
	n	%	n	%			n	%	n	%		
Entamoeba complex*												
Positivos	127	22,1	16	19,0	0,82	0,522	138	21,6	5	3,1	1,65	0,355
Negativos	447	77,9	68	81,0	(0,43- 1,50)		501	78,4	11	68,8	(0,44- 5,25)	
G. intestinalis												
Positivos	122	21,2	18	21,4	1,01	0,970	138	21,6	2	12,5	0,51	0,380
Negativos	452	78,8	66	78,6	(0,54- 1,80)		501	78,4	14	87,5	(0,05- 2,30)	
T. trichiura												
Positivos	61	10,6	12	14,3	1,40	0,318	71	11,1	2	12,5	1,14	0,861
Negativos	513	89,4	72	85,7	(0,65- 2,78)		568	88,8	14	87,5	(0,12- 5,13)	
A. lumbricoides												
Positivos	38	6,6	7	8,3	1,28	0,561	42	6,5	1	6,2	0,94	0,958
Negativos	536	93,4	77	91,7	(0,46- 3,04)		597	93,4	15	93,7	(0,02- 6,45)	
Protozoos												
Positivos	546	95,1	76	90,5	0,48	0,080	604	94,5	14	87,5	0,04	0,229
Negativos	28	4,9	8	9,5	(0,20- 1,28)		35	5,4	2	12,5	(0,08- 3,82)	
Protozoos Patógenos												
Positivos	217	37,8	30	35,8	0,91	0,711	241	37,7	6	37,5	0,99	0,986
Negativos	357	62,2	54	64,2	(0,54- 1,50)		398	62,2	10	62,5	(0,29- 3,05)	
Helmintos												
Positivos	100	17,4	20	23,8	1,48	0,156	524	82,0	13	81,8	0,95	0,938
Negativos	474	82,6	64	76,2	(0,81- 2,61)		115	18,0	3	18,7	(0,25- 5,28)	
Parásito Patógeno												
Positivo	269	46,9	40	47,6	1,03	0,897	300	46,9	7	43,8	0,87	0,800
Negativo	305	53,1	44	52,4	(0,63- 1,67)		339	53,0	9	56,2	(0,27- 2,68)	
Multiparasitismo												
Positivo	91	16,6	9	11,7	0,66	0,273	97	15,9	2	14,3	0,87	0,866
Negativo	458	83,3	68	88,3	(0,28- 1,40)		511	84,0	12	85,7	(0,94- 4,03)	

Tabla 34.- Regresión logística de la presencia o ausencia de padre o madre en el núcleo familiar por prevalencias de parasitación; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando p<0,05; **E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*.

Variable	Sector primario padre				OR (IC95%)	p-valor	Sector secundario Padre				OR (IC95%)	p-valor	Sector terciario padre				OR (IC95%)	p-valor
	Sí		No				Sí		No				Sí		No			
	n	%	n	%			n	%	n	%			n	%	n	%		
Entamoeba complex*																		
Positivos	70	23,3	57	20,8	1,15	0,465	22	20,4	105	22,5	0,87	0,625	35	21,0	92	22,6	0,91	0,701
Negativos	230	76,7	217	79,2	(0,76- 1,75)		86	79,6	361	77,5	(0,49- 1,50)		131	79,0	316	77,4	(0,57- 1,44)	
G. intestinalis																		
Positivos	63	21,0	59	21,5	0,96	0,876	25	23,1	97	20,8	1,14	0,593	34	20,5	88	21,6	0,93	0,772
Negativos	237	79,0	215	78,5	(0,63- 1,47)		83	76,9	369	79,2	(0,66- 1,92)		132	79,5	320	78,4	(0,58- 1,48)	
T. trichiura																		
Positivos	32	10,6	29	10,6	1,00	0,974	11	10,1	50	10,7	0,94	0,868	18	10,8	43	10,5	1,03	0,914
Negativos	268	89,4	245	89,4	(0,57- 1,78)		97	89,9	416	89,3	(0,42- 1,92)		148	89,2	365	89,5	(0,54- 1,89)	
A. lumbricoides																		
Positivos	15	5,0	23	8,4	0,57	0,102	12	11,1	26	5,5	2,11	0,037	11	6,6	27	6,6	1,00	0,996
Negativos	285	95,0	251	91,6	(0,27- 1,17)		96	88,9	440	94,4	(0,93- 4,52)		155	93,4	381	93,4	(0,43- 2,14)	
Protozoos																		
Positivos	288	96,0	258	94,2	1,48	0,306	98	90,7	448	96,1	0,39	0,019	160	96,4	386	94,6	1,51	0,370
Negativos	12	4,0	16	5,8	(0,64-3,51)		10	9,3	18	3,9	(0,16- 0,98)		6	3,6	22	5,4	(0,58-4,66)	
Protozoos Patógenos																		
Positivos	113	37,7	104	38,0	0,98	0,943	41	38,0	176	37,8	1,00	0,970	63	38,0	154	37,8	1,00	0,963
Negativos	187	62,3	170	62,0	(0,69- 1,40)		67	62,0	290	62,2	(0,63- 1,58)		103	62,0	254	62,2	(0,68- 1,48)	
Helmintos																		
Positivos	49	16,3	51	18,6	0,85	0,472	23	21,3	77	16,5	1,36	0,238	28	16,9	72	17,7	0,94	0,823
Negativos	251	83,7	223	81,4	(0,54- 1,34)		85	78,7	389	83,5	(0,77- 2,35)		138	83,1	336	82,3	(0,56- 1,55)	
Parásito Patógeno																		
Positivo	140	46,7	129	47,1	0,98	0,921	50	46,3	219	47,0	0,97	0,895	79	47,6	190	46,6	1,04	0,824
Negativo	160	53,3	145	52,9	(0,69- 1,38)		58	53,7	247	53,0	(0,62- 1,51)		87	52,4	218	53,4	(0,73- 1,51)	
Multiparasitismo																		
Positivo	43	14,9	48	18,4	0,77	0,276	19	19,2	72	16,0	1,24	0,439	29	17,9	62	16,0	1,14	0,588
Negativo	245	85,1	213	81,6	(0,48- 1,25)		80	80,8	378	84,0	(0,67- 2,23)		133	82,1	325	83,9	(0,67- 1,89)	

Tabla 35.- Regresión logística del sector laboral del padre por prevalencias de parasitación; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

Variable	Sector primario Madre				OR (IC95%)	p-valor	Sector secundario Madre				OR (IC95%)	p-valor	Sector terciario Madre				OR (IC95%)	p-valor
	Sí		No				Sí		No				Sí		No			
	n	%	n	%			n	%	n	%			n	%	n	%		
Entamoeba complex*																		
Positivos	124	22,4	14	16,5	1,46	0,217	1	14,3	137	21,7	0,60	0,636	13	16,7	125	22,3	0,69	0,258
Negativos	430	77,6	71	83,5	(0,78-2,90)		6	85,7	495	78,3	(0,01-5,03)		65	83,3	436	77,7	(0,34-1,33)	
G. intestinalis																		
Positivos	122	22,0	16	18,8	1,21	0,504	2	28,6	136	21,5	1,45	0,652	14	18,0	124	22,1	0,77	0,403
Negativos	432	78,0	69	81,2	(0,66-2,33)		5	71,4	496	78,5	(0,13-9,02)		64	82,0	437	77,9	(0,38-1,44)	
A. lumbricoides																		
Positivos	40	7,2	2	2,3	3,22	0,091	0	0,0	42	6,6	0	0,480	2	2,6	40	7,1	0,34	0,127
Negativos	514	92,8	83	97,7	(0,80-28,0)		7	100,0	590	93,4	(0-7,87)		76	97,4	521	92,9	(0,03-1,37)	
T. trichiura																		
Positivos	65	11,7	6	7,0	1,75	0,201	0	0,0	71	11,2	0	0,346	6	7,7	65	11,6	0,63	0,305
Negativos	489	88,3	79	93,0	(0,72-5,10)		7	100,0	561	88,8	(0-4,39)		72	92,3	496	88,4	(0,21-1,53)	
Protozoos																		
Positivos	526	95,0	78	91,8	1,68	0,230	4	57,1	600	95	0,07	0,000	74	94,5	530	94,5	1,08	0,885
Negativos	28	5,0	7	8,2	(0,60-4,12)		3	42,9	32	5,0	(0,01-0,51)		4	5,1	31	5,5	(0,36-4,33)	
Protozoos Patógenos																		
Positivos	214	38,6	27	31,8	1,35	0,224	3	42,9	297	47,0	1,24	0,778	24	30,8	217	38,7	0,70	0,176
Negativos	340	61,4	58	68,2	(0,81-2,29)		4	57,1	335	53,0	(0,18-7,40)		54	69,2	344	61,3	(0,40-1,20)	
Helmintos																		
Positivos	107	19,3	8	9,4	2,30	0,026	1	14,3	114	18,0	0,75	0,797	7	9,0	108	19,2	0,41	0,026
Negativos	447	80,7	77	90,6	(1,96-5,68)		6	85,7	518	82,0	(0,01-6,33)		71	91,0	453	80,8	(0,15-0,93)	
Parásito Patógeno																		
Positivo	269	48,6	31	36,5	1,64	0,037	3	42,9	297	47,0	0,84	0,827	28	35,9	272	48,5	0,59	0,036
Negativo	285	51,4	54	63,6	(1,02-2,73)		4	57,1	335	53,0	(0,12-5,04)		50	64,1	289	51,5	(0,35-0,99)	
Multiparasitismo																		
Positivo	449	84,7	62	79,5	1,43	0,238	3	75,0	508	84,1	0,56	0,620	59	79,7	452	84,6	0,71	0,279
Negativo	81	15,3	16	20,5	(0,73-2,66)		1	25,0	96	15,9	(0,04-30,0)		15	20,3	82	15,4	(0,37-1,422)	

Tabla 36.- Regresión logística del sector laboral de la madre por prevalencias de parasitación; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; p-valor= nivel de significancia considerando p<0,05; **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

En relación a la presencia o ausencia de animales en la vivienda, no se obtuvo resultados estadísticamente significativos, excepto en el caso de *A. lumbricoides*, tratándose de una asociación negativa, de forma que la presencia de animales en el interior de la casa no supone la infección por *A. lumbricoides* (OR=0,43; p=0,02). También se deduce que la presencia de animales resulta una asociación positiva con la presencia de especies de protozoos patógenas en general, con la presencia de *G. intestinalis* y con la ocurrencia del multiparasitismo.

Sin embargo, cuando se consideró el tipo de animal que los escolares tenían en casa, los datos mostrados en la Tabla 38, muestran que la presencia de suidos, establece una relación negativa significativamente estadística para la presencia de protozoos (OR=0,26; p=0,004).

En cuanto a la presencia de bóvidos en las viviendas se detecta relación positiva, y casi significativa estadísticamente, para la presencia de protozoos (OR=3,22; p=0,059) y, aunque sin significancias positivas con *G. intestinalis* y la presencia de helmintos.

La presencia de gallináceas tampoco resulta factor de riesgo significativo en ninguno de los casos considerados aunque se observó una asociación positiva con la parasitación por protozoos en general. Finalmente, considerando la presencia de roedores en la vivienda y a pesar de la falta de significancia estadística se detectó asociación positiva con la infección por cualquier especie de protozoo patógeno, infección por *Entamoeba histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*, *G. intestinalis* y la presencia de cualquier especie parasita patógena.

Teniendo en cuenta si los animales son resguardados dentro o fuera de la vivienda durante las noches, la Tabla 39 muestra la distribución de niños parasitados y no parasitados considerando este comportamiento. En estos resultados, se puede observar que el hecho de guardar los animales dentro de casa por la noche, es un factor de riesgo para la infección por protozoos en general (OR=2,63; p=0,041), especies patógenas de protozoos desconsiderando a *B. hominis* (OR=1,75; p=0,002), para la infección por *Entamoeba histolytica/ E. dispar/ E. moshkovskii* (OR=1,77; p=0,006) y para la infección por cualquier especie patógena (OR=1,67; p=0,005).

Variable	Tipo de suelo				OR (IC95%)	p-valor	Animales en la vivienda				OR (IC95%)	p-valor
	Cemento		Tierra				Sí		No			
	n	%	n	%			n	%	n	%		
Entamoeba complex*												
Positivos	25	20,5	119	22,1	1,09	0,701	125	21,4	19	24,4	0,84	0,557
Negativos	97	79,5	420	77,9	(0,66-1,86)		458	78,6	59	75,6	(0,47-1,56)	
G. intestinalis												
Positivos	21	17,2	119	22,1	1,36	0,235	126	21,6	14	18,0	1,26	0,457
Negativos	101	82,8	420	77,9	(0,80-2,39)		457	78,4	64	82,0	(0,67-2,51)	
T. trichiura												
Positivos	7	5,7	66	12,2	2,29	0,038	61	10,5	12	15,4	0,64	0,192
Negativos	115	94,3	473	87,8	(1,01-6,07)		522	89,5	66	84,6	(0,32-1,38)	
A. lumbricoides												
Positivos	3	2,5	42	7,8	3,35	0,034	35	6,0	10	12,8	0,43	0,024
Negativos	119	97,5	497	92,2	(1,04-17,2)		548	94,0	68	87,2	(0,19-1,03)	
Protozoos												
Positivos	113	92,6	511	94,8	1,45	0,355	549	94,2	75	96,1	0,65	0,474
Negativos	9	7,4	28	5,2	(0,58 – 3,24)		34	5,8	3	3,9	(0,12-2,13)	
Protozoos Patógenos												
Positivos	45	36,9	203	37,7	1,03	0,872	222	38,0	26	33,3	1,22	0,416
Negativos	77	63,1	336	62,3	(0,67- 1,59)		361	62,0	52	66,7	(0,72-2,11)	
Helmintos												
Positivos	10	8,2	110	20,4	2,87	0,001	100	17,1	20	25,6	0,60	0,067
Negativos	112	91,8	429	79,6	(1,43-6,35)		483	82,9	58	74,4	(0,33-1,10)	
Parásito Patógeno												
Positivo	48	39,3	262	48,6	1,45	0,064	273	46,9	37	47,4	0,97	0,919
Negativo	74	60,7	277	51,4	(0,95-2,22)		310	53,1	41	52,6	(0,59-1,61)	
Multiparasitismo												
Positivo	91	79,8	437	85,0	1,43	0,170	462	83,5	66	88,0	1,44	0,322
Negativo	23	20,2	77	15,0	(0,81-2,45)		91	16,5	9	12,0	(9,68-3,41)	

Tabla 37.- Regresión logística del tipo de suelo y presencia de animales en la vivienda por prevalencias de parasitación; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando p<0,05; **E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*

Variable	Suidos				OR (IC95%)	p- valor	Bóvidos				OR (IC95%)	p- valor	Gallináceas				OR (IC95%)	p- valor	Roedores				OR (IC95%)	p- valor
	Sí		No				Sí		No				Sí		No				Sí		No			
	n	%	n	%			n	%	n	%			n	%	n	%			n	%	n	%		
Entamoeba complex*																								
Positivos	7	19,4	118	21,6	0,87 (0,31-2,11)	0,763	119	21,1	6	31,6	0,57 (0,20-1,90)	0,273	8	17,8	118	21,7	0,77 (0,30-1,75)	0,534	3	23,1	122	21,4	1,10 (0,19-4,36)	0,884
Negativos	29	80,6	429	78,4			445	78,9	13	68,4			37	82,2	425	78,3			10	76,9	448	78,6		
G. intestinalis																								
Positivos	5	13,9	121	22,1	0,56 (0,16-1,51)	0,245	122	21,6	4	21,0	1,03 (0,32-4,36)	0,951	9	20,0	117	21,5	0,91 (0,37-1,99)	0,808	4	30,8	122	21,4	1,63 (0,36-5,96)	0,417
Negativos	31	86,1	426	77,9			442	78,4	15	79,0			36	80,0	426	78,5			9	69,2	448	78,6		
T. trichiura																								
Positivos	2	5,6	59	10,8	0,48 (0,05-1,98)	0,320	61	10,8	0	0,0	-	0,129	3	6,7	59	10,9	0,58 (0,11-1,92)	0,378	1	7,7	60	10,5	0,70 (0,01-4,94)	0,741
Negativos	34	94,4	488	89,2			503	89,2	19	100,0			42	93,3	484	89,1			12	92,3	510	89,5		
A. lumbricoides																								
Positivos	1	2,8	34	6,2	0,43 (0,01-0,98)	0,400	35	6,2	0	0,0	-	0,262	1	2,22	35	6,4	0,32 (0,00-2,06)	0,256	0	0,0	35	6,1	0,00 (0,00-4,60)	0,356
Negativos	35	97,2	513	93,8			529	93,8	19	100,0			44	97,8	508	93,6			13	100,0	535	93,9		
Protozoos																								
Positivos	30	83,3	519	94,9	0,26 (0,09-0,86)	0,004	533	94,5	16	84,2	3,22 (0,57-12,12)	0,059	43	95,6	511	94,1	1,34 (0,32-11,9)	0,689	12	92,3	537	94,2	0,73 (0,10-32,4)	0,772
Negativos	6	16,7	28	5,1			31	5,5	3	15,8			2	4,4	32	5,9			1	7,7	33	5,8		
Protozoos Patógenos																								
Positivos	10	27,8	212	38,8	0,60 (0,25-1,33)	0,188	214	38,0	8	42,1	0,84 (0,30-2,44)	0,713	17	37,8	206	38,0	0,99 (0,49-1,93)	0,983	7	53,9	214	37,7	1,92 (0,54-7,02)	0,236
Negativos	26	72,2	335	61,2			350	62,0	11	57,9			28	62,2	337	62,0			6	46,1	355	62,3		
Helmintos																								
Positivos	4	11,1	96	17,5	0,58 (0,14-1,71)	0,320	98	17,4	2	10,5	1,78 (0,41-16,1)	0,436	5	11,1	96	17,7	0,58 (0,17-1,53)	0,261	1	7,7	99	17,4	0,39 (0,00-2,74)	0,360
Negativos	32	88,9	451	82,5			466	82,6	17	89,5			40	88,9	447	82,3			12	92,3	471	82,6		
Parásito Patógeno																								
Positivo	13	36,1	260	47,5	0,62 (0,28-1,31)	0,183	264	46,8	9	47,4	0,97 (0,35-2,76)	0,183	20	44,4	254	46,8	0,91 (0,46-1,75)	0,763	7	53,8	266	46,7	1,33 (0,37-4,86)	0,608
Negativo	23	63,9	287	52,5			300	53,2	10	52,6			25	55,6	289	53,2			6	46,2	304	53,3		
Multiparasitismo																								
Positivo	26	86,7	436	83,4	0,77 (0,19-2,30)	0,635	446	83,0	16	100,0	-	0,071	37	84,1	429	83,5	0,94 (0,34-2,26)	0,914	11	91,7	451	83,4	0,45 (0,01-3,21)	0,443
Negativo	4	13,3	87	16,6			91	17,0	0	0,0			7	15,9	85	16,5			1	8,3	90	16,6		

Tabla 38.- Regresión logística del tipo de animales en la vivienda por prevalencias de parasitación; Regresión logística del tipo de suelo y presencia de animales en la vivienda por prevalencias de parasitación; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

Resultados

Variable	Alojamiento nocturno de los animales				OR (IC95%)	p-valor
	Dentro de la vivienda		Fuera de la vivienda			
	n	%	n	%		
Entamoeba complex*						
Positivos	49	29,0	73	18,7	1,77 (1,13-2,74)	0,006
Negativos	120	71,0	317	81,3		
G. intestinalis						
Positivos	45	26,6	76	19,5	1,49 (0,95-2,33)	0,059
Negativos	124	73,2	314	80,5		
T. trichiura						
Positivos	21	12,4	38	9,74	1,31 (0,70-2,38)	0,343
Negativos	148	87,6	352	90,3		
A. lumbricoides						
Positivos	9	5,33	24	6,15	0,85 (0,34-1,96)	0,702
Negativos	160	94,7	366	93,9		
Protozoos						
Positivos	164	97,0	361	92,6	2,63 (0,98-8,86)	0,041
Negativos	5	3,0	29	7,4		
Protozoos Patógenos						
Positivos	81	47,9	134	34,4	1,75 (1,19-2,57)	0,002
Negativos	88	52,1	256	65,6		
Helmintos						
Positivos	32	18,9	63	16,1	1,21 (0,73-1,98)	0,421
Negativos	137	81,1	327	83,9		
Parásito Patógeno						
Positivo	95	56,2	169	43,3	1,67 (1,14-2,45)	0,005
Negativo	74	43,8	221	56,7		
Multiparasitismo						
Positivo	145	88,4	301	82,5	1,62 (0,91-2,97)	0,081
Negativo	19	11,6	64	17,5		

Tabla 39.- Regresión logística según el alojamiento nocturno de los animales por prevalencias de parasitación; n=nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando p<0,05; **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

Además, se observó asociación positiva no significativa para la infección por *G. intestinalis*, la parasitación por helmintos en general y específicamente por *T. trichiura*, aparte de tener asociación positiva con la presencia de los multiparasitismos.

C) ELIMINACIÓN DE EXCRETAS

En relación a la forma utilizada para la eliminación de excretas por parte de escolares, los resultados se muestran en la Tabla 40. El uso de letrinas representa factor de riesgo para la presencia de cualquier especie parásita patógena (OR=10; $p=0,06$), así como para la presencia del multiparasitismo (OR=5,49; $p=0,003$). Cabe resaltar que se detectó valor significativo para la presencia de cualquier protozoo patógeno (aunque no fue posible calcular el valor de OR) de forma que ningún estudiante con WC tenía esta parasitación, mientras que los estudiantes con letrina 38,3% sí la padecían.

En esta misma Tabla de resultados se observa que a pesar de no detectarse diferencias estadísticamente significativas, hay asociación positiva en relación a la eliminación de excretas mediante el uso de letrina y la parasitación por helmintos y por *T. trichiura* individualmente.

D) AGUA DE CONSUMO

En la Tabla 41 se observa que en los estudiantes que no hierven el agua antes de beber, hay riesgo de infección con cualquier protozoo patógeno (OR=1,46; $p=0,049$), con los helmintos en general (OR=1,87; $p=0,018$), con *A. lumbricoides* (OR=2,71; $p=0,031$) y con la presencia de cualquier parásito patógeno (OR=1,72; $p=0,002$). Además, también se observa que a pesar de la falta de diferencias estadísticamente significativas aparecen asociaciones estadísticamente positivas con el hecho de no hervir el agua para su consumo.

Resultados

E) CONDICIONES ALIMENTARIAS

La Tabla 42 muestra los resultados en relación al factor de comer los vegetales cocidos. Se observa que el hecho de comer los vegetales cocidos no resulta factor de riesgo para la infección de ninguna parasitosis intestinal. Aunque no se detecta diferencias significativas, la relación resulta positiva para la infección de protozoos y de helmintos, así como para la presencia de cualquier parásito patógeno.

Variable	Eliminación de excretas				OR (IC95%)	p-valor
	Letrina		Inodoro			
	n	%	n	%		
Entamoeba complex*						
Positivos	144	22,3	0	0,0	NC	0,064
Negativos	503	77,7	12	100,0		
G. intestinalis						
Positivos	140	21,6	0	0,0	NC	0,069
Negativos	507	78,4	12	100,0		
T. trichiura						
Positivos	72	11,1	1	8,3	1,37 (0,19-60,0)	0,759
Negativos	575	88,9	11	91,7		
A. lumbricoides						
Positivos	45	7,0	0	0,0	NC	0,343
Negativos	602	93,0	12	100,0		
Protozoos						
Positivos	613	94,7	10	83,3	3,69 (0,36-17,8)	0,084
Negativos	34	5,3	2	16,7		
Protozoos Patógenos						
Positivos	248	38,3	0	0,0	NC	0,006
Negativos	399	61,7	12	100,0		
Helmintos						
Positivos	119	18,4	1	8,3	2,47 (0,35-107,5)	0,371
Negativos	528	81,6	11	91,7		
Parásito Patógeno						
Positivo	309	47,8	1	8,3	10,0 (1,44-434,1)	0,006
Negativo	338	52,2	11	91,7		
Multiparasitismo						
Positivo	522	84,6	5	50,0	5,49 (1,23-24,26)	0,003
Negativo	95	15,4	5	50,0		

Tabla 40.- Regresión logística de la eliminación de excretas con las prevalencias de parasitación; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; NC= valor no calculable debido a la presencia de valor nulo en el valor absoluto de escolares positivos (n); **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

Variable	Agua hervida antes de beber				OR (IC95%)	p-valor
	Sí		No			
	n	%	n	%		
Entamoeba complex*						
Positivos	27	16,8	117	23,5	1,52 (0,94-2,51)	0,074
Negativos	134	83,2	382	76,6		
G. intestinalis						
Positivos	26	16,1	114	22,8	1,53 (0,94-2,56)	0,070
Negativos	135	83,9	385	77,2		
T. trichiura						
Positivos	13	8,1	59	11,8	1,52 (0,79-3,12)	0,184
Negativos	148	91,9	440	88,2		
A. lumbricoides						
Positivos	5	3,1	40	8,0	2,71 (1,04-8,97)	0,031
Negativos	156	96,9	459	92,0		
Protozoos						
Positivos	147	91,3	476	95,4	1,97 (0,91-4,11)	0,050
Negativos	14	8,7	23	4,6		
Protozoos Patógenos						
Positivos	50	31,1	198	39,7	1,46 (0,98-2,18)	0,049
Negativos	111	68,9	301	60,3		
Helmintos						
Positivos	19	11,8	100	20,4	1,87 (1,08-3,35)	0,018
Negativos	142	88,2	399	80,0		
Parásito Patógeno						
Positivo	59	36,7	250	50,1	1,72 (1,19-2,59)	0,002
Negativo	102	63,3	249	49,9		
Multiparasitismo						
Positivo	124	83,8	403	84,1	1,02 (0,59-1,72)	0,919
Negativo	24	16,2	76	15,9		

Tabla 41.- Regresión logística del cuidado con el agua antes de su consumo con las prevalencias de parasitación; n=nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; **E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*.

Resultados

Variable	Come vegetales cocidos				OR (IC95%)	p-valor
	Sí		No			
	n	%	n	%		
Entamoeba complex*						
Positivos	2	22,2	141	21,7	0,96 (0,18-9,64)	0,967
Negativos	7	77,8	510	78,3		
G. intestinalis						
Positivos	2	22,2	138	21,2	0,94 (0,17-9,38)	0,940
Negativos	513	78,8	7	77,8		
T. trichiura						
Positivos	1	11,1	72	11,0	0,99 (0,13-44,7)	0,996
Negativos	8	88,9	579	89,0		
A. lumbricoides						
Positivos	0	0,0	45	7,0	NC	0,413
Negativos	9	100	606	93,0		
Protozoos						
Positivos	9	100,0	614	94,3	0 (0,0-7,23)	0,461
Negativos	0	0,0	37	5,7		
Protozoos Patógenos						
Positivos	3	33,3	244	37,5	1,19 (0,25-7,47)	0,798
Negativos	6	66,7	407	62,5		
Helmintos						
Positivos	1	11,1	119	18,3	1,78 (0,23-80,0)	0,579
Negativos	8	88,9	532	81,7		
Parásito Patógeno						
Positivo	3	33,3	306	47,0	1,77 (0,37-11,0)	0,414
Negativo	6	66,7	345	53,0		
Multiparasitismo						
Positivo	8	88,9	519	84,0	0,65 (0,01-4,98)	0,689
Negativo	1	11,1	99	16,0		

Tabla 42.- Regresión logística del consumo de vegetales cocidos frente a las prevalencias de parasitación; n=nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando p<0,05; **E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*.

F) HIGIENE Y CUIDADOS PERSONALES

En este apartado se muestra los resultados obtenidos en relación con la higiene y los cuidados personales de los escolares.

La Tabla 43 muestra la relación de la utilización del calzado por parte de los escolares cuando se encuentran dentro y fuera del hogar. Se observa que los niños que no utilizan calzado están en mayor riesgo de padecer infecciones por protozoos patógenos (OR=1,77; p=0,000), infecciones por *E.histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii* (OR=1,64; p=0,012), por *G. intestinalis* (OR=1,70, p=0,007), por la infección de helmintos en general (OR=1,58; p=0,030), de *T. trichiura* individualmente (OR=1,72; p=0,040) y por cualquier especie patógena (OR=1,72; p=0,00).

Sin embargo, teniendo en cuenta la presencia de suelos de tierra en las viviendas con la presencia de animales, se tuvo en cuenta si los estudiantes andaban también calzados en sus casas. Se observa que andar descalzo en casa resulta factor de riesgo para la presencia de protozoos patógenos (OR=1,51; p=0,031), de *G. intestinalis* (OR=1,58; p=0,019) y de cualquier parasito patógena (OR=1,51; p=0,019).

En la Tabla 44 se muestra datos relacionados con el hábito higiénico de lavarse las manos antes de comer. El hecho de no lavarse las manos antes de comer resultó factor de riesgo para la parasitación de cualquier parasito patógeno (OR=1,43; p=0,045) y aunque no de forma significativa mostró asociarse positivamente con todos los demás factores comparados, excepto para la infección por protozoos en general. Además, se observa que la no utilización de jabón al lavarse las manos antes de comer resulta también factor de riesgo para la parasitación por cualquier protozoo patógeno (OR=1,52; p=0,036) y para la presencia de cualquier especie patógena (OR=1,48; p=0,037) y aunque no de forma significativa, mostró asociarse positivamente con todos los demás factores comparados.

En la Tabla 45 se muestran los resultados relativos al lavado de manos después de ir al baño. Así, la falta de lavado de manos después de eliminar excretas resulta factor de riesgo para la presencia de cualquier protozoo patógeno (OR=1,52; p=0,007), de *G. intestinalis* (OR=1,71; p=0,011) y de cualquier especie parasita patógena (OR=1,63; p=0,003). También demuestra la asociación positiva en relación a la

Resultados

infección por todos los demás grupos o especies de parásitos. No se detectó asociación estadísticamente significativa con la presencia o no de parásitos intestinales en relación al uso del jabón al lavarse las manos después de ir al baño. Sin embargo, se presenció asociación positiva de esta variable con la infección por los protozoos en general, de *E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii* individualmente y de los helmintos.

Los resultados en relación al hábito personal de lavarse, o bañarse todos los días, se observa en la Tabla 46. Se encontró factor de riesgo para la parasitación por helmintos (OR=2,56; p=0,000) y, en concreto tanto para *A. lumbricoides* (OR=2,90; p=0,021) y para *T. trichiura* (OR=2,33; p=0,013). Además, se detectó asociaciones positivas con todos los demás grupos o especies individuales de parásitos.

En relación al uso del jabón, para este lavado personal, no se detectó asociación significativa, aunque se observó asociación positiva en relación a las infecciones por los helmintos, en general, y al multiparasitismo.

3.8.2.2.- ANÁLISIS LOGÍSTICO MULTIPLE

Considerando los resultados obtenidos en el análisis univariante anterior, factores identificados como significativamente estadísticos (con $p < 0,05$) fueron introducidos en un modelo de regresión múltiple, para intentar explicar el comportamiento de diferentes factores simultáneamente y analizar mejor la posible interacción de estos factores en conjunto.

La Tabla 47 muestra los resultados de este análisis múltiple. Se observa que en relación a las variables que individualmente favorecían la presencia de protozoos, en el análisis univariable, cuando se tratan en conjunto todas tienen relación significativa negativa, excepto la presencia de bóvidos en las viviendas. En el conjunto, se obtiene una asociación positiva estadísticamente no significativa.

En relación a los protozoos patógenos, y a *G. intestinalis* individualmente, no se observa diferencias significativas cuando se analizan los valores en conjunto.

Variable	Uso del calzado fuera del hogar				OR (IC95%)	p-valor	Uso del calzado en el hogar				OR (IC95%)	p-valor
	Sí		No				Sí		No			
	N	%	n	%			n	%	n	%		
Entamoeba complex*												
Positivos	46	16,9	97	25,1	1,64	0,012	33	19,2	85	24,4	1,35	0,185
Negativos	226	83,1	290	74,9	(1,09-2,48)		139	80,8	264	75,6	(0,84-2,20)	
G. intestinalis												
Positivos	44	16,2	96	24,8	1,70	0,007	31	18,0	90	25,8	1,58	0,048
Negativos	228	83,8	291	75,2	(1,13-2,60)		141	82,0	259	74,2	(0,98-2,58)	
T. trichiura												
Positivos	22	8,1	51	13,2	1,72	0,040	12	7,0	44	12,6	1,92	0,051
Negativos	250	91,9	336	86,8	(0,99-3,06)		160	93,0	305	87,4	(0,96-4,11)	
A. lumbricoides												
Positivos	14	5,1	31	8,0	1,60	0,151	10	5,8	31	8,9	1,57	0,221
Negativos	258	94,9	356	92,0	(0,80-3,33)		162	94,2	318	91,1	(0,73-3,70)	
Protozoos												
Positivos	253	93,0	369	95,3	1,64	0,200	161	93,6	333	95,4	1,42	0,380
Negativos	19	7,0	18	4,7	(0,74-3,17)		11	6,4	16	4,6	(0,58-3,34)	
Protozoos Patógenos												
Positivos	81	29,8	166	42,9	1,77	0,000	58	33,7	152	43,5	1,51	0,031
Negativos	191	70,2	221	57,1	(1,25-2,49)		114	66,3	197	56,5	(1,02-2,26)	
Helmintos												
Positivos	39	14,3	81	21,0	1,58	0,030	25	14,5	72	20,6	1,52	0,092
Negativos	233	85,7	306	79,0	(1,02-2,47)		147	85,5	277	79,4	(0,91-2,62)	
Parásito Patógeno												
Positivo	106	39,0	203	52,4	1,72	0,000	73	42,4	186	53,3	1,54	0,019
Negativo	166	61,0	184	47,6	(1,24-2,39)		99	57,6	163	46,7	(1,05-2,27)	
Multiparasitismo												
Positivo	209	82,0	317	85,4	1,29	0,242	135	83,3	289	85,7	1,19	0,494
Negativo	46	18,0	54	14,6	(0,81-2,03)		27	16,7	48	14,3	(0,68-2,05)	

Tabla 43.- Regresión logística del uso de calzado fuera y dentro del hogar frente a las prevalencias de parasitación; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

Variable	Lavado de manos antes de comer				OR (IC95%)	p-valor	Lavado de manos antes de comer con jabón				OR (IC95%)	p-valor
	Sí		No				Sí		No			
	n	%	n	%			n	%	n	%		
Entamoeba complex*												
Positivos	101	20,3	43	26,2	1,39	0,112	34	19,2	67	20,9	1,11	0,646
Negativos	396	79,7	121	73,8	(0,89-2,13)		143	80,8	253	79,1	(0,68-1,82)	
G. intestinalis												
Positivos	102	20,5	38	23,1	1,16	0,471	28	15,8	74	23,1	1,60	0,053
Negativos	395	79,5	126	76,9	(0,74-1,81)		149	84,2	246	76,9	(0,97-2,69)	
T. trichiura												
Positivos	57	11,5	16	9,8	0,83	0,544	19	10,7	38	11,9	1,12	0,702
Negativos	440	88,5	148	90,2	(0,43-1,52)		158	89,3	282	88,1	(0,60-2,13)	
A. lumbricoides												
Positivos	29	5,8	16	9,8	1,74	0,083	9	5,1	20	6,2	1,24	0,595
Negativos	468	94,2	148	90,2	(0,85-3,42)		168	94,9	300	93,8	(0,52-3,17)	
Protozoos												
Positivos	466	93,8	158	96,3	0,57	0,212	165	93,2	301	94,1	1,15	0,701
Negativos	31	6,2	6	3,7	(0,70-5,22)		12	6,8	19	5,9	(0,49-2,57)	
Protozoos Patógenos												
Positivos	176	35,4	72	43,9	1,42	0,051	52	29,4	124	38,8	1,52	0,036
Negativos	321	64,6	92	56,1	(0,97-2,07)		125	70,6	196	61,2	(1,00-2,30)	
Helmintos												
Positivos	90	18,1	30	18,2	1,01	0,957	28	15,8	62	19,4	1,27	0,324
Negativos	407	81,9	134	81,8	(0,61-1,62)		149	84,2	258	80,6	(0,76-2,17)	
Parásito Patógeno												
Positivo	222	44,7	88	53,7	1,43	0,045	68	38,4	154	48,1	1,48	0,037
Negativo	275	55,3	76	46,3	(0,99-2,07)		109	61,6	166	51,9	(1,00-2,20)	
Multiparasitismo												
Positivo	391	83,2	137	86,7	1,31	0,295	136	81,9	255	83,9	1,14	0,588
Negativo	79	16,8	21	13,3	(0,77-2,33)		30	18,1	49	16,1	(0,67-1,94)	

Tabla 44.- Regresión logística del lavado de manos antes de comer y su respectivo uso del jabón frente a las prevalencias de parasitación; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando p<0,05; **E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*.

Variable	Lavado de manos después de ir al baño				OR (IC95%)	p-valor	Lavado de manos después de ir al baño con jabón				OR (IC95%)	p-valor
	Sí		No				Sí		No			
	n	%	n	%			n	%	n	%		
Entamoeba complex*												
Positivos	46	20,5	97	22,2	1,10	0,613	34	19,5	12	24,0	1,30	0,491
Negativos	178	79,5	339	77,7	(0,73-1,68)		140	80,5	38	76,0	(0,55-2,87)	
G. intestinalis												
Positivos	35	15,6	105	24,0	1,71	0,011	29	16,7	6	12,0	0,68	0,423
Negativos	189	84,4	331	75,9	(1,10-2,69)		145	83,3	44	88,0	(0,21-1,82)	
T. trichiura												
Positivos	24	10,7	48	11,0	1,03	0,908	19	10,9	5	10,0	0,90	0,853
Negativos	200	89,3	388	88,9	(0,59-1,81)		155	89,1	45	90,0	(0,25-2,70)	
A. lumbricoides												
Positivos	9	4,0	35	8,0	2,08	0,050	8	4,6	1	2,0	0,52	0,409
Negativos	215	96,0	401	91,9	(0,95-5,02)		166	95,4	49	98,0	(0,00-3,30)	
Protozoos												
Positivos	209	93,3	414	94,9	1,35	0,382	162	93,1	47	94,0	1,16	0,823
Negativos	15	6,7	22	5,0	(0,63-2,78)		12	6,9	3	6,0	(0,29-6,66)	
Protozoos Patógenos												
Positivos	68	30,4	179	41,0	1,59	0,007	53	30,5	15	30,0	0,97	0,950
Negativos	156	69,6	257	58,9	(1,11-2,28)		121	69,5	35	70,0	(0,45-2,20)	
Helmintos												
Positivos	37	16,5	82	18,8	1,20	0,399	27	15,5	10	20,0	1,36	0,451
Negativos	187	83,5	354	81,1	(0,77-1,89)		147	84,5	40	80,0	(0,54-3,20)	
Parásito Patógeno												
Positivo	87	38,8	222	50,9	1,63	0,003	68	39,1	19	38,0	0,95	0,890
Negativo	137	61,2	214	49,0	(1,16-2,30)		106	60,9	31	62,0	(0,47-1,90)	
Multiparasitismo												
Positivo	173	82,4	554	84,8	1,20	0,417	135	82,8	38	80,9	0,87	0,754
Negativo	37	17,6	63	15,1	(0,74-1,91)		28	17,2	9	19,1	(0,36-2,29)	

Tabla 45.- Regresión logística del lavado de manos después de ir al baño y su respectivo uso del jabón frente a las prevalencias de parasitación; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

Variable	Se lava/baña todos los días				OR (IC95%)	p-valor	Utilización de jabón al lavarse/bañarse				OR (IC95%)	p-valor
	Sí		No				Sí		No			
	n	%	n	%			n	%	n	%		
Entamoeba complex*												
Positivos	32	18,9	112	22,8	1,26	0,298	141	21,8	3	20,0	0,89	0,865
Negativos	137	81,1	380	77,2	(0,80-2,02)		505	78,2	12	80,0	(0,16-3,38)	
G. intestinalis												
Positivos	33	19,5	107	21,8	1,14	0,542	137	21,2	3	20,0	0,92	0,909
Negativos	136	80,5	385	78,2	(0,72-1,83)		509	78,8	12	80,0	(0,16-3,50)	
T. trichiura												
Positivos	10	5,9	63	12,8	2,33	0,013	72	11,1	1	6,7	0,56	0,584
Negativos	159	94,1	429	87,2	(1,15-5,22)		574	88,9	14	93,3	(0,01-3,85)	
A. lumbricoides												
Positivos	5	3,0	40	8,1	2,90	0,021	44	6,9	1	6,7	0,97	0,982
Negativos	164	97,0	452	91,9	(1,11-9,57)		602	93,1	14	93,3	(0,02-6,71)	
Protozoos												
Positivos	157	93,0	467	94,9	1,42	0,324	609	94,3	15	100,0	NC	0,340
Negativos	12	7,1	25	5,1	(0,63-3,03)		37	5,7	0	0,0		
Protozoos Patógenos												
Positivos	59	34,9	189	38,4	1,16	0,417	243	37,6	5	33,3	0,82	0,734
Negativos	110	65,1	330	61,6	(0,79-1,70)		403	62,4	10	66,7	(0,21-2,70)	
Helmintos												
Positivos	16	9,5	104	21,1	2,56	0,000	117	18,1	3	20,0	1,13	0,851
Negativos	153	90,5	388	78,9	(1,44-4,79)		529	81,9	12	80,0	(0,20-4,27)	
Parásito Patógeno												
Positivo	71	42,0	239	48,6	1,30	0,141	304	47,0	6	40,0	0,75	0,588
Negativo	98	58,0	253	51,4	(0,90-1,88)		342	53,0	9	60,0	(0,21-2,39)	
Multiparasitismo												
Positivo	130	82,3	398	84,7	1,19	0,475	514	83,9	14	93,3	2,69	0,321
Negativo	28	17,7	72	15,3	(0,70-1,95)		99	16,1	1	6,7	(0,49-115,1)	

Tabla 46.- Regresión logística del lavado personal y su respectivo uso del jabón frente a las prevalencias de parasitación; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; IC95%= intervalo de confianza del 95%; p-valor= nivel de significancia considerando p<0,05; NC= valor no calculable debido a la presencia de valor nulo en el valor absoluto de escolares positivos (n); **E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*.

Variable	OR (IC95%)	p-valor	p-valor de Hosmer y Lemeshow
Entamoeba complex*			
Alojamiento nocturno de los animales dentro de la vivienda	0,60 (0,39-0,92)	0,021	0,657
No utilización del calzado fuera del hogar	1,59 (1,02-2,46)	0,036	
G. intestinalis			
No utilización del calzado fuera del hogar	0,87 (0,54-1,37)	0,542	0,745
No utilización del calzado dentro del hogar	>100 (NC)	1,000	
Sin lavado de manos después de ir al baño	0,0 (NC)	1,000	
T. trichiura			
Suelo de tierra	1,83 (0,87-3,84)	0,108	0,071
No utilización del calzado fuera del hogar	0,65 (0,26-1,58)	0,347	
No se lava/baño todos los días	1,31 (0,74-2,33)	0,344	
A. lumbricoides			
Sector secundario padre	2,03 (0,97-4,26)	0,060	0,747
Suelo de tierra	0,61 (0,16-2,29)	0,471	
Presencia de animales en casa	3,07 (1,30-7,24)	0,010	
No hierve agua antes de beber	1,95 (0,71-5,32)	0,193	
No se lava/baño todos los días	2,37 (0,75-7,43)	0,138	
Protozoos			
Sector secundario padre	0,33 (0,13-0,80)	0,015	0,695
Sector secundario madre	0,02 (0,0-0,20)	0,000	
Alojamiento nocturno de los animales dentro de la vivienda	0,11 (0,02-0,68)	0,017	
Bóvidos	3,88 (0,86-17,43)	0,077	
Suidos	0,29 (0,09-0,95)	0,043	
Protozoos Patógenos			
Alojamiento nocturno de los animales dentro de la vivienda	0,83 (0,50-1,36)	0,470	0,675
Letrina en el hogar	1 (NC)	NC	
No hierve agua antes de beber	0,89 (0,51-1,57)	0,708	
No utilización del calzado fuera del hogar	>100 (NC)	1,000	
No utilización del calzado dentro del hogar	0,0 (NC)	1,000	
Sin lavado de manos antes de comer con jabón	1,15 (0,35-3,75)	0,811	
Sin lavado de manos después de ir al baño	1,55 (0,50-4,73)	0,441	
Helmintos			
Sector primario madre	1,27 (0,14-11,0)	0,826	0,979
Sector terciario madre	0,83 (0,08-8,41)	0,881	
Suelo de tierra	0,59 (0,27-1,28)	0,187	
Agua hervida antes de beber	1,42 (0,79-2,54)	0,237	
No utilización del calzado fuera del hogar	0,99 (0,61-1,61)	0,980	
No se lava/baño todos los días	1,96 (1,06-3,64)	0,031	
Parásito Patógeno			
Sector Primario Madre	0,65 (0,10-4,08)	0,647	0,626
Sector Terciario Madre	0,50 (0,07-3,64)	0,502	
Alojamiento nocturno de los animales dentro de la vivienda	0,89 (0,54-1,48)	0,676	
Letrina en el hogar	1 (NC)	NC	
No hierve agua antes de beber	1,35 (0,77-2,39)	0,288	
No utilización del calzado fuera del hogar	>100 (NC)	1,000	
No utilización del calzado dentro del hogar	0,0 (NC)	1,000	
Sin lavado de manos antes de comer	1 (NC)	NC	
Sin lavado de manos antes de comer con jabón	1,45 (0,44-4,82)	0,535	
Sin lavado de manos después de ir al baño	1,88 (0,60-5,87)	0,272	

Tabla 47.- Regresión logística múltiple de conjuntos de factores de riesgo frente a las prevalencias de parasitación; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos; OR= Odds Ratio; p-valor= nivel de significancia considerando $p < 0,05$; p-valor de Hosmer y Lemeshow= test de bondad de ajuste; NC= valor no calculable debido a la presencia de valor nulo en el valor absoluto de escolares positivos (n); **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

Resultados

En relación a la parasitación por *E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii* se observaron resultados significativos. El tipo de alojamiento nocturno de los animales establece una asociación negativa significativa (OR=0,60; p=0,021) y para el uso del calzado fuera del hogar una asociación positiva significativa (OR=1,59; p=0,036), por lo que la presencia de una de estas variables tiene efecto contrario a la otra.

Observando en conjunto a los factores que individualmente se relacionaban significativamente con la presencia de helmintos, se observa que todos estos factores en conjunto no ofrecen diferencias estadísticamente significativas, a excepción de lavarse/bañarse todos los días dónde se observa una asociación positiva.

En relación a la presencia de *A. lumbricoides*, a pesar de no detectar valores significativos, se detectaron asociaciones positivas entre escolares que tienen a sus padres actuando laboralmente en el Sector Primario, los que tienen animales en casa, los que no hierven el agua antes de beber y los que no se asean diariamente. Igualmente, se detectó asociaciones positivas en relación a la presencia de *T. trichiura*, con la presencia de suelo de tierra en las viviendas y del hecho de asearse diariamente.

De igual forma, en relación a la presencia de cualquier parásito patógeno se constata que aunque no haya diferencias estadísticamente significativas, se detectan asociaciones positivas con el hecho de poseer letrina en el hogar, hervir el agua antes de beberla, con el hecho de no lavarse las manos después de ir al baño, con no lavarse las manos después de ir al baño con jabón y con no lavarse las manos después de ir al baño.

Además, a esta regresión logística múltiple se le aplicó el test de Hosmer y Lemeshow obteniendo el correspondiente valor de p para cada regresión. El test estadístico de Hosmer y Lemeshow es un test de bondad del ajuste al modelo propuesto en la regresión logística múltiple, a fin de comprobar si el modelo propuesto con el conjunto de variables puede explicar o no la presencia o no de las parasitosis. En este test, se pretende que el p-valor no rechace la hipótesis nula, es decir, que si el p-valor de Hosmer y Lemeshow es superior a 0,05, se puede afirmar que los modelos propuestos con los conjuntos de variables se ajustan al modelo de regresión. En base a

esto, y considerando los resultados de la Tabla 46, se observa que todos los conjuntos de variables se ajustan al modelo de regresión logística.

3.9.- EN RELACIÓN AL ANALISIS MOLECULAR

Tras realizar el análisis etiológico de las muestras fecales del Colegio Nemba I, se pretendió, una vez puesto a punto el protocolo molecular, llevar a cabo la diferenciación entre las especies de *E. histolytica* y *E. dispar*. Para ello se utilizaron las heces en las que se había previamente detectado microscópicamente el complejo *E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*.

Las técnicas moleculares se aplicaron a 82 muestras, por lo que todas ellas fueron previamente lavadas, para la posterior extracción del ADN, siguiendo los protocolos determinados anteriormente en el capítulo segundo de esta Tesis. Posteriormente, se aplicó también el protocolo descrito en relación a la técnica de PCR a cada una de las muestras positivas del complejo.

La Figura 28 muestra los resultados obtenidos en el estudio molecular. La mayoría de las muestras (50%) resultaron parasitadas por la especie *E. histolytica*, mientras que la parasitación por la especie *E. dispar* fue minoritaria (15%). Un 23,7% resultó tener la presencia simultánea de ambas especies parasitas. Además, se observó diferencia estadísticamente significativa entre la presencia de ambas especies ($p=0,004$). A parte de esto, de las muestras que previamente habían resultado positivas en el análisis microscópico, un total de 9 (11,3%) no pudieron ser identificadas específicamente a nivel molecular.

Además, en la Figura 29 se puede observar un ejemplo de la visualización de la técnica de electroforesis en gel de agarosa al 1%, permitiéndose observar las muestras positivas molecularmente para *E. histolytica*.

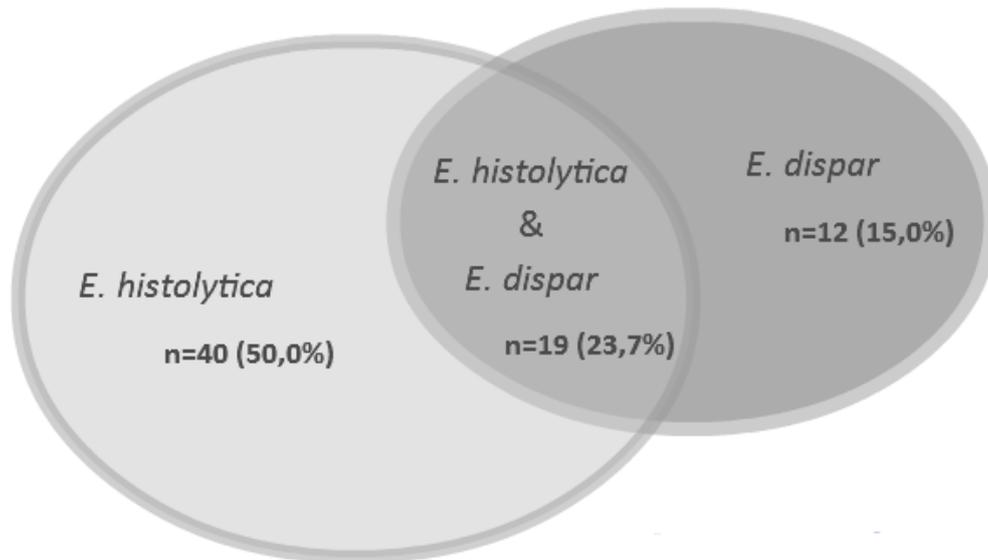


Figura 28.- Resultados encontrados para cada especie y para el conjunto de ambas especies en el análisis molecular; n= nº de casos; %= porcentaje del nº de casos. 9 casos (11,3%) no pudieron ser identificados molecularmente

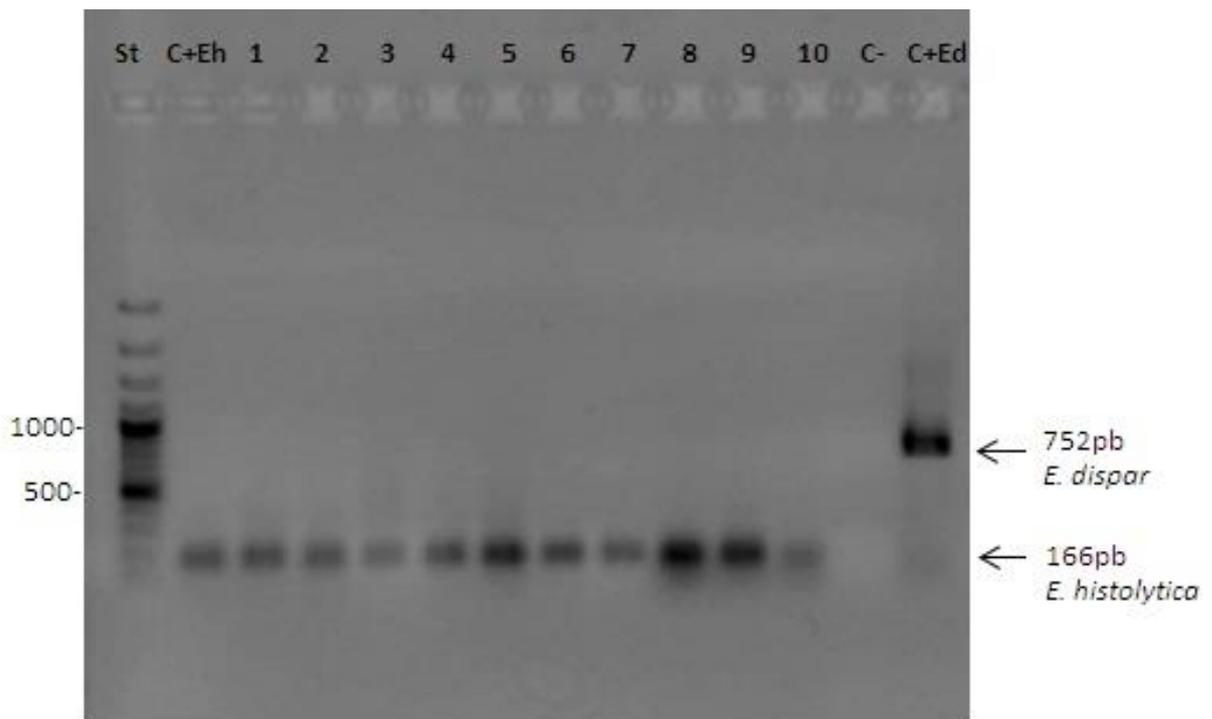


Figura 29.- Gel de electroforesis de una de las amplificaciones de PCR para la detección y diferenciación de *E. histolytica* y *E. dispar*, usando los primers EntaF, Ehr y Edr. Línea St= Estándar de 100 en 100 pb; Línea C+Eh= Control positivo para *E. histolytica*; Líneas 1 a 10 muestras positivas molecularmente para *E. histolytica*; Línea C-= Control negativo; Línea C+Ed= Control positivo para *E. dispar*.

CAPITULO CUARTO: DISCUSIÓN

4.-DISCUSIÓN

En este capítulo está dedicado a discutir los resultados obtenidos en el presente estudio. A fin de aportar claridad a la discusión se ha considerado oportuno subdividirlo en dos puntos: el primero, en el cual los resultados obtenidos en el presente trabajo son comparados con estudios llevados a cabo por otros autores en el mismo país, Ruanda; y el segundo, en el que los resultados son comparados con los resultados observados en escenarios geográficos próximos, como son los países que hacen frontera con Ruanda, es decir, Uganda, República Democrática del Congo, Burundi y Tanzania.

4.1.- EN RELACIÓN A OTROS ESTUDIOS EN RUANDA

A continuación, se compara los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral con los resultados obtenidos en Ruanda por otros autores.

4.1.1.- EN RELACIÓN AL ESPECTRO PARASITARIO INTESTINAL Y LAS PREVALENCIAS DE PARASITACIÓN

En el presente estudio se detectó un total de 17 especies parásitas, lo cual constituye el espectro parasitario más amplio que se ha reportado alguna vez en Ruanda (Tabla 48). Se observa que este espectro encontrado es extenso y de gran biodiversidad y que a modo general está formado por especies de biología monoxena, es decir, por especies que en sus ciclos de vida, no hay intervención de hospedadores intermediarios. Especialmente relevante están las especies *Hymenolepis diminuta* y *Taenia solium*, las cuales presentan un ciclo biológico heteroxeno dependiente de los hospedadores intermediarios, es decir, coleópteros y el cerdo, respectivamente.

A la vista de esto, se puede afirmar que el presente estudio presenta un perfil de transmisión directa a través del contacto ano/mano/boca o bien de forma indirecta a partir de la ingestión de agua o verduras contaminadas.

De esta forma, este espectro puede ser usado como marcador biológico relacionado con las transmisiones parasitarias de tipo fecal-oral.

REFERENCIA (AUTOR Y AÑO)	ESPECTRO PARASITARIO		
	Nº Protozoos	Nº Helmintos	Nº Especies Totales
HANOTIER & GIGASE (1981)	0	1	1
BOGAERTS <i>et al.</i> (1987)	3	0	3
GASANA <i>et al.</i> (2002)	4	5	9
DUSHIMIMANA <i>et al.</i> (2008)	0	5	5
MUPFASONI <i>et al.</i> (2009)	0	3	3
IGNATIUS <i>et al.</i> (2012)	8	3	11
IVAN <i>et al.</i> (2013)	0	3	3
NIYIZURUGERO <i>et al.</i> (2013)	3	2	5
DANAQUAH <i>et al.</i> (2014)	1	0	1
IGNATIUS <i>et al.</i> , (2014)	1	0	1
STAUDACHER <i>et al.</i> (2014)	0	3	3
HEIMER <i>et al.</i> (2015)	1	3	4
KARAGIANNIS-VOULES <i>et al.</i> (2015)	0	3	3
TESIS DOCTORAL	10	7	17

Tabla 48.- Espectro parasitario encontrado en la bibliografía consultada sobre Ruanda y en la presente Tesis Doctoral.

En general, el espectro de protozoos (tanto las especies patógenas como las comensales) y las especies de helmintos *H.nana* y *E. vermicularis*, se destacan como biomarcadores de las transmisiones persona a persona (ciclo ano/mano/boca), hídrica y alimentaria. Además, *B. hominis* y *Cryptosporidium* sp. pueden indicar infecciones zoonóticas, mientras que *T. trichiura*, *A. lumbricoides* y los ancilostómidos son biomarcadores de la transmisión a partir de suelos contaminados, bien por vía oral a partir de la ingesta de formas infectantes, o bien por vía cutánea a partir de la penetración de larvas infectantes por la piel.

En relación a *H. diminuta* y *T. solium*, se puede decir que son biomarcadores de la transmisión alimentaria; debido a malos hábitos alimentares, siendo la primera especie indicadora de la transmisión parasitaria originada a partir de la ingesta accidental de pequeños coléopteros de la harina, mientras que la segunda indicaría la transmisión a partir de la ingesta de carne de cerdo cruda o mal cocinada.

En la Tabla 49, en donde se recoge la prevalencia de parasitación total, se observa que la encontrada en el presente trabajo es bastante superior a la encontrada (94,9%) en otro estudio (50,5%) (NIYIZURUGERO *et al.*, 2013). Lo mismo ocurre en relación a la prevalencia de la infección ocasionada por protozoos en general (94,5% vs. 78,2%) (NIYIZURUGERO *et al.*, 2013).

Al mismo tiempo, en el presente trabajo se detectaron porcentajes de prevalencia superiores a los ya reportados con anterioridad para las siguientes especies de protozoos: *E. coli*, *E. hartmanni*, *E. nana*, *I. bütschlii*, *C. mesnili* y *B. hominis*. Sin embargo, se obtuvieron porcentajes inferiores a los obtenidos previamente para *E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*. (21,8%), en comparación al obtenido por NIYIZURUGERO *et al.* 2013 (54,6%); *G. intestinalis* (21%) en relación al obtenido por DANAQUAH *et al.* (2014) (65,3%); y *Cryptosporidium* sp. (0,6%) en comparación al resultado obtenido por BOGAERTS *et al.* (1987).

La especie de protozoo más prevalente fue *E. nana* (91,1%), mientras que en otros estudios ha sido *G. intestinalis* (GASANA *et al.*, 2002; DANAQUAH *et al.*, 2014; IGNATIUS *et al.*, 2014; HEIMER *et al.*, 2015), *E. coli* (IGNATIUS *et al.*, 2012), el complejo *Entamoeba* (NIYIZURUGERO *et al.*, 2013) y *Cryptosporidium* sp. (BOGAERTS *et al.*, 1987).

Se observa también, a partir de los resultados de esta Tabla, que la presente Tesis Doctoral amplía el espectro parasitario global en Ruanda. Entre los protozoos, cabe destacar en este estudio la presencia de *E. hominis*, especie que no había sido reportada con anterioridad en Ruanda.

La Tabla 50 hace referencia a los resultados obtenidos en relación a los helmintos. En ella se observa que el presente estudio, en relación a los helmintos en general muestra un porcentaje inferior (18,1%) al encontrado en otros estudios realizados en Ruanda (43,1%; 21,8%) (IVAN *et al.*, 2013; NIYIZURUGERO *et al.*, 2013).

También se observa que las especies reportadas por primera vez en el país han sido *H. nana* y *T. solium*. En el caso de *T. solium* se ha reportado, con anterioridad, una prevalencia del 21,8% de cisticercosis en personas que sufrían de epilepsia a partir de anticuerpos en sangre (ROTTBECK et al., 2013). Sin embargo, el presente estudio es la primera vez que se reporta en Ruanda la presencia de *T. solium* en muestra de heces.

Las restantes especies de helmintos no mostraron mayor porcentaje de prevalencia en comparación a estudios realizados con anterioridad. Para *H. diminuta* (0,1%) y para *E. vermicularis* se obtuvo mayor prevalencia de parasitación en el estudio de GASANA et al. (2002), con 0,85% y 0,1% respectivamente. Para *T. trichiura* (11,1%) se observó mayor parasitación (23,3%) en el estudio de KARAGIANNIS-VOULES et al. (2015), aunque cabe decir que el resultado obtenido por estos autores a partir de predicciones de meta-análisis geoestadístico y no a partir de un estudio coprológico.

Para *A. lumbricoides* (6,8%) se observa una mayor prevalencia en el estudio de HEIMER et al. (2015) y de STAUDACHER et al. (2014), con un porcentaje del 37,5%. Igual consideración cabe realizar para los ancilostómidos con prevalencia en el presente estudio del 0,3%, frente al estudio de KARAGIANNIS-VOULES et al. (2015) con un 31,9%.

Por último, cabe destacar la presencia de *S. mansoni* en 1981, con un 4,35% (HANOTIER & GIGASE) y en 2008, con un 0,08% (DUSHIMIMANA et al., 2008), a pesar de su ausencia en todos los demás estudios realizados, incluso en la presente Tesis Doctoral. En el estudio de HANOTIER & GIGASE (1981), en dónde se considera que el país en cuestión no es foco importante de esta enfermedad y que su expansión era limitada, los autores estimaron que la enfermedad debió de haber sido introducida en Ruanda antes de 1972 probablemente por medio de trabajadores de obras originarios de la República Democrática del Congo, dónde ya existía la enfermedad.

REFERENCIA (AUTOR)	BOGAERTS <i>et al.</i> (1987)	GASANA <i>et al.</i> (2002)	IGNATIUS <i>et al.</i> (2012)	NIYIZUREGERO <i>et al.</i> (2013)	DANAQUAH <i>et al.</i> (2014)	IGNATIUS <i>et al.</i> , (2014)	HEIMER <i>et al.</i> (2015)	TESIS DOCTORAL
LOCALIDAD	Kigali	Provincia Sur	Provincia Sur	Kigali	Provincia Sur	Provincia Sur	Provincia Sur-rural	Provincia Norte
CARACTERÍSTICAS MUESTRALES Tamaño y edad muestral	2.717 niños (1-13 años)	3.062 personas (0-84 años)	583 niños (0-5 años)	109 estudiantes	575 niños (0-5 años)	583 niños (0-5 años)	301 escolares (5-18 años)	674 escolares (6 a 18 años)
TÉCNICA COPROLÓGICA UTILIZADA	R, ZN	VD, R, ZN	VD, R	VD	VD, R	VD, R	KK	VD, R, ZN
ESPECIES PARASITAS	%	%	%	%	%	%	%	%
Total parasitados	-	-	-	50,5	-	-	-	94,9
Protozoos	-	-	-	78,2	-	-	-	94,5
<i>Entamoeba coli</i>	-	-	27,6	-	-	-	-	57,2
<i>Entamoeba hartmanni</i>	-	3	-	-	-	-	-	56,3
<i>Entamoeba complex*</i>	1,3	0,85	14,7	54,6	-	-	-	21,8
<i>Endolimax nana</i>	-	-	3,0	-	-	-	-	91,1
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	-	-	3,4	-	-	-	-	26,7
<i>Giardia intestinalis</i>	2,4	7	19,8	3,6	65,3	45,9	43,9(PCR)	21,0
<i>Chilomastix mesnili</i>	-	0,85	2,4	-	-	-	-	2,9
<i>Enteromonas hominis</i>	-	-	-	-	-	-	-	0,3
<i>Cryptosporidium sp.</i>	8,4	-	4,9	-	-	-	-	0,6
<i>Blastocystis hominis</i>	-	-	4,1	-	-	-	-	89,9

Tabla 49.- Prevalencias parasitarias en relación a la parasitación total y a la parasitación por protozoos en Ruanda. R= Técnica de Ritchie; VD= visión directa y ZN= Ziehl-Neelsen; %= frecuencia de casos; **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

El helminto más prevalente en el presente trabajo ha sido *T. trichiura* (11,1%), coincidiendo con el estudio de MUPFASONI *et al.* (2009) realizado también en la Provincia Norte de Ruanda en dónde se muestra una prevalencia del 6,08% para este geohelminto. Otros estudios realizados en otras provincias del país han reportado como helminto más prevalente a *A. lumbricoides* (GASANA *et al.*, 2002; DUSHIMIMANA *et al.*, 2008; IGNATIUS *et al.*, 2012; IVAN *et al.*, 2013; STAUDACHER *et al.*, 2014; HEIMER *et al.*, 2015), mientras que el meta-análisis geoestadístico de KARAGIANNIS-VOULES *et al.* (2015) tiene como helminto más prevalente a los ancilostómidos.

REFERENCIA (AUTOR)	HANOTIER & GIGASE (1981)	GASANA et al. (2002)	DUSHIMIMANA et al. (2008)	MUPFASONI et al. (2009)	IGNATIUS et al. (2012)	IVAN et al. (2013)	NIYIZURUGERO et al. (2013)	STAUDACHER et al. (2014)	HEIMER et al. (2015)	KARAGIANNIS-VOULES et al. (2015)	TESIS DOCTORAL
LOCALIDAD	Provincia Norte	Provincia Sur	Todo el país	Provincia Norte	Provincia Sur	Provincia Este-rural	Kigali	Provincia Sur- rural	Provincia Sur- rural	Todo el país	Provincia Norte
CARACTERÍSTICAS MUESTRALES Tamaño y edad muestral	12.480 personas (todas las edades)	3.062 personas (0-84 años)	7.202 escolares (7-20 años)	1.605 escolares (5-20 años)	583 niños (0-5 años)	635 mujeres embarazadas(VIH)	109 estudiantes	301 escolares (5-18 años)	301 escolares (5-18 años)	5477 personas (0-20 años)	674 escolares (6 a 18 años)
TÉCNICA COPROLÓGICA UTILIZADA	-	VD, R, ZN	KK	KK	VD, R	KK	VD	KK	KK	(Bibliográfico)	VD, R, ZN, KK
ESPECIES PARASITAS	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Helmintos	-	-	24	-	-	43,1	21,8	-	-	-	18,1
<i>Hymenolepis diminuta</i>	-	0,85	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
<i>Hymenolepis nana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3
<i>Taenia</i> sp.	-	-	0,12	-	-	-	-	-	-	-	0,3
<i>Enterobius vermicularis</i>	-	0,42	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
<i>Trichuris trichiura</i>	-	0,85	2,9	6,04	1,9	8,66	-	2,3	2,3	23,3	11,1
<i>Ascaris lumbricoides</i>	-	21	20	2,80	31,6	26,1	20,0	37,5	37,5	31,7	6,8
Ancylostomidae gen. sp.	-	1,28	2,9	0,75	2,7	8,35	1,8	0,7	0,7	31,9	0,3
<i>Schistosoma mansoni</i>	4,35	-	0,08	-	-	-	-	-	-	-	0

Tabla 50.- Prevalencias parasitarias en relación a la parasitación por helmintos en Ruanda. KK= Kato-Katz; R= Técnica de Ritchie; VD= visión directa y ZN= Ziehl-Neelsen; %= frecuencia de casos; **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

Finalmente, y en relación a las prevalencias, llama la atención lo elevadas que resultan a nivel de protozoos, en comparación a las prevalencias encontradas para los helmintos. Esto puede estar vinculado a las condiciones de vida de los escolares de Nemba. Los protozoos intestinales tienen su transmisión fuertemente vinculada al agua y se ha observado con anterioridad (veáse apartado 3.7.) que el 89,6% de los escolares depende del agua obtenida de fuentes. Sin embargo, la procedencia de esta agua es cuestionable, además de que solamente un 24,2% la hierve antes de beber.

4.1.1.1.- EN RELACIÓN AL SEXO

En el presente estudio no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre sexos para ninguna de las especies parásitas, ni para ninguno de los grupos de parásitos. Además, el estudio sobre *G. intestinalis* de IGNATIUS *et al.* (2012) tampoco encontró diferencias estadísticamente significativas entre sexos y este protozoo. La ausencia de diferenciación estadística en relación al sexo evidencia probablemente la ausencia de un marcado y diferente rol social entre sexos en la población de Nemba.

Los restantes trabajos realizados en territorio ruandés no analizan la parasitación en relación al sexo, a excepción del trabajo de HANOTIER & GIGASE (1981), en el cual se observa una mayor parasitación de *S. mansoni* asociado al sexo masculino, aunque en ningún momento se analiza si la diferencia es estadísticamente significativa. En el presente trabajo, el trematodo no ha sido hallado lo cual puede ser debido a que Nemba se localiza relativamente lejos de lagos que previamente se han descrito como focos de infección, aunque es cierto que se trate de una parasitación generalmente muy baja en Ruanda.

4.1.1.2.- EN RELACIÓN A GRUPOS DE EDAD

En el presente estudio, el grupo etario más afectado por el parasitismo intestinal es aquel comprendido entre las edades de 6 a 10 años, a pesar de que no hubo diferencia estadísticamente significativa con los otros grupos. Probablemente esto ocurra debido

a que esta edad se enfrenta a una mayor exposición a la infección enteroparasitaria. Debe considerarse que a estas edades, los escolares son más independientes que cuando tienen edades inferiores y consecuentemente realizan sus necesidades fisiológicas y de alimentación sin la supervisión y cuidados de los padres. De esta manera, la correcta higiene personal, o los adecuados cuidados alimentares (como el lavado de frutas), dependen del niño exclusivamente, con la consiguiente potenciación de la vía de infección fecal-oral. Frente a ellos, tendríamos los escolares de edades más avanzadas, que en condiciones normales son más conscientes de algunas prácticas higiénicas y en consecuencia ocurre, aunque no en la medida deseable, una disminución de las prevalencias de parasitación en las edades más avanzadas.

Además, en el presente trabajo se observó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de edades para *G. intestinalis*. La parasitación en los escolares entre los 6 y 10 años de edad fue de un 25,5% y entre los de 11 y 13 años fue del 20,7%, finalmente, escolares con edades entre los 14 y 18 años tuvieron una parasitación por este protozoo en un 10,0%. Se observa, entonces, que la parasitación por este parásito declina con la edad, hecho que también fue observado en el trabajo de HEIMER *et al.* (2015). Además, otro estudio realizado también con *G. intestinalis* en niños de hasta 5 años de edad (DANAQUAH *et al.*, 2014), observa que la prevalencia de este parásito aumenta según se incrementa la edad hasta los 5 años. De esta manera, y considerando lo expuesto, parece ser que en las edades más tempranas la presencia de este parásito va en aumento hasta que se alcanzan los 5 o 6 años de edad; y a partir de estas edades, la prevalencia empieza a decaer según se incrementa la edad. A pesar de que el presente estudio coincide con lo expuesto por HEIMER *et al.* (2015), no coincide con lo mostrado por IGNATIUS *et al.* (2012), en el cual no se encuentran diferencias estadísticamente significativas en relación a la edad y la parasitación por *G. intestinalis*.

También en el presente estudio se encontró diferencia estadísticamente significativa para *T. solium*. La presencia de este parásito fue nula para los grupos de edades de 6 a 10 años y de 11 a 13 años y tuvo una prevalencia del 1,8%, en escolares que tenían entre 14 y 18 años. En cualquier caso, futuros estudios permitirán analizar de manera más profunda el mecanismo que hay entre este parásito y la edad.

Otros trabajos que relatan el parasitismo intestinal según la edad, son detallados a continuación:

HANOTIER & GIGASE (1981) observaron que el grupo más parasitado por *S. mansoni* fue el grupo etario comprendido entre los 11 y 15 años. En el presente trabajo, no se pudo realizar esta asociación debido a la ausencia del parásito en la población estudiada.

BOGAERTS *et al.* (1987) realizan un estudio sobre la criptosporidiosis con niños entre 1 y 13 años de edad. Este trabajo reporta que el grupo más parasitado fue el de los niños con edades entre 1 y 3 años de edad (8,9%), mientras que en niños con edades superiores a los 3 años de edad, la prevalencia de parasitación fue de 2,4%. Este hecho se asimila a la baja prevalencia de *Cryptosporidium* sp. encontrada en este estudio en todas las edades y donde, además, el grupo etario más afectado es aquel comprendido entre los 6 y 10 años de edad, con un 1,3% de parasitación. Debido a la baja prevalencia de *Cryptosporidium* spp., no se pudo observar en el presente estudio la relación entre la criptosporidiosis y la edad.

DUSHIMIMANA *et al.* (2008) observa que el grupo más parasitado para los helmintos en general es aquel comprendido entre los 7 y 12 años. En el presente estudio, el grupo de edad más afectado por este grupo de helmintos fue el de los escolares entre los 6 y 10 años de edad, lo cual se aproxima bastante a lo reportado en el pasado. IVAN *et al.* (2013), realiza un estudio en mujeres embarazadas VIH y detectan que las mujeres con edades superiores a los 30 años se encontraban más parasitadas por helmintos que aquellas que tenían edad inferior a los 30.

Por último, STAUDACHER *et al.* (2014) reportan una caída en la presencia de geohelmintos en general según la edad aumenta. En el presente estudio esto ocurre únicamente en el caso de *A. lumbricoides*, donde el grupo etario de 6 a 10 años presenta una prevalencia del 9,3%; el grupo de 11 a 13 años de 5,2%; y el grupo de 14 a 18 años, de 4,5%. Además, cabe decir que en este estudio ocurre lo opuesto en relación a los ancilostomídeos, donde se observa que el grupo con edad entre 6 y 10 años tiene una parasitación del 0,0%; el grupo de 11 a 13 años una prevalencia del 0,3%; y finalmente, el grupo de 14 a 18 años de edad una prevalencia del 0,9%. Esto, probablemente se deba

a que los niños de mayor edad son más independientes en sus costumbres y desobedezcan más a sus padres, no usando el calzado.

4.1.1.3.- EN RELACIÓN AL GRADO ESCOLAR

De todos los trabajos analizados, y que fueron realizados con escolares en Ruanda, ninguno analiza la relación del parasitismo intestinal con el nivel escolar cursado. El presente estudio es el único en abordar este aspecto. Cabe resaltar que analizando los datos sobre esta vertiente se han observado más diferencias estadísticamente significativas que por sexo o por grupos de edad. Se observaron diferencias estadísticamente significativas para *E. hartmanni*, *I. bütschlii*, *G. intestinalis*, y *A. lumbricoides*. Suponiendo que los escolares interactúan más con sus compañeros de clase durante los ratos libres, se observa que las especies relacionadas con el grado escolar están fuertemente relacionadas con la vía de transmisión de manos sucias.

4.1.2.- EN RELACIÓN AL MULTIPARASITISMO

En el presente trabajo, la parasitación simultánea por tres especies es la más dominante (19,3%). IGNATIUS *et al.* (2012) reporta que la parasitación más predominante es aquella ocasionada por apenas una especie parásita (33,3%). En los otros trabajos realizados en Ruanda, no se hace referencia a los distintos grados de multiparasitismo, por lo que la Tabla 51 muestra las diferencias en los datos obtenidos en el presente trabajo y el de IGNATIUS *et al.* (2012). Para facilitar la comparación de los resultados entre ambos estudios de manera más adecuada, se han juntado en esta Tabla todos los niños con parasitación igual o superior a cuatro especies.

Lo más sorprendente de esta Tabla, es el hecho de la diferencia de porcentajes de niños sin parasitación (18,0% vs. 5,0%) y muy en especial, la diferencia de porcentajes de niños con 4 o más parásitos (9,6% vs.43,7%). Zonas geográficas diferentes, poblaciones de estudio con diferentes rangos de edades, y sobre todo, diferentes métodos coprológicos empleados, pueden ser factores que expliquen estas diferencias de porcentajes.

Nº de Especies	IGNATIUS <i>et al.</i> (2012)	TESIS DOCTORAL
	%	%
0	18,0	5,0
1	33,3	15,4
2	25,9	16,6
3	13,2	19,3
≥4	9,6	43,7

Tabla 51.- Porcentajes de multiparasitismo en Ruanda en la bibliografía consultada y en la presente Tesis Doctoral, según el número de especies parásitas. %= frecuencia de casos.

4.1.3.- EN RELACIÓN A LAS ASOCIACIONES ENTRE ESPECIES PARASITAS

En el trabajo de HEIMER *et al.* (2015) se relata que la infección por *G. intestinalis* no se asoció con la presencia de geohelminthos. En el presente estudio, este protozoo intestinal tuvo asociación positiva no significativa con *T. trichiura*, aunque para entender mejor la asociación de este protozoo intestinal y los geohelminthos son necesarios más estudios.

En el presente trabajo también se evidencia asociación positiva y significativa entre la parasitación por *E. histolytica/ E. dispar/ E. moshkovskii* con *B. hominis*; por *B. hominis* con *E. histolytica/ E. dispar/ E. moshkovskii* y con *G. intestinalis*; y por *G. intestinalis* y *B. hominis*. Quizás conviene destacar que las relaciones entre parásitos son relevantes ya que se trata de especies parásitas que comparten ruta de infección.

4.1.4.- EN RELACIÓN A LAS INTENSIDADES DE PARASITACIÓN

Hay estudios efectuados en Ruanda que han sido realizados mediante la técnica cuantitativa de Kato-Katz, aunque otros no reportan las intensidades de parasitación (DUSHIMIMANA *et al.*, 2008; IVAN *et al.*, 2013; HEIMER *et al.*, 2015).

En relación al número de huevos por gramo de heces (hgh) encontrados, STAUDACHER *et al.* (2014) muestra una media geométrica de 1.371 hgh para *A. lumbricoides*, la cual dista bastante de la encontrada en la presente Tesis (908,1 hgh), y

Discusión

muestra una media geométrica de 72 hgh para *T. trichiura*, la cual se aproxima bastante a la encontrada en el presente trabajo (63,5 hgh).

En Ruanda se ha encontrado, previamente, resultados de infección leve para *T. trichiura* de un 6,04% y de un 1,9% (MUPFASONI *et al.*, 2009; STAUDACHER *et al.*, 2014) lo que contrasta con el 24,4% obtenido en el presente trabajo. Para *A. lumbricoides* se han relatado infecciones leves en un 2,80% y en un 12,1% en las poblaciones objeto de estudio (MUPFASONI *et al.*, 2009; STAUDACHER *et al.*, 2014), frente a un 7,5% encontrado en este estudio. En relación a las infecciones leves ocasionadas por ancilostómidos, se han encontrado porcentajes en la población ruandesa del 0,75% y 0,3% (MUPFASONI *et al.*, 2009; STAUDACHER *et al.*, 2014), frente a 0,5% encontrado en el presente trabajo. Se observa que en relación a infecciones leves tanto de *A. lumbricoides* como de los ancilostómidos, los datos entre los estudios no son muy diferentes. No obstante, en el caso de para *T. trichiura* se observa que el presente trabajo obtuvo más casos de infecciones leves que los estudios anteriores.

STAUDACHER *et al.* (2014) encontró infección de intensidad moderada para *A. lumbricoides* (3,5%), mientras que no encontró intensidad moderada para ninguna de las otras especies de geohelminos. De esta manera, las infecciones de intensidad moderada para *A. lumbricoides* no distan mucho de los datos obtenidos en el presente trabajo (2,3%); y ambos estudios coinciden con el hecho de no haber encontrado infecciones de intensidad moderada para la especie *T. trichiura* y para los ancilostómidos. Por último, STAUDACHER *et al.* (2014) no encuentran infecciones de intensidad elevada para ninguna de las tres especies de geohelminos, aunque en el presente estudio se encontró infección de intensidad elevada para *A. lumbricoides* (0,1%).

Las diferencias encontradas en relación a las intensidades de parasitación entre los estudios pueden deberse a la expulsión intermitente de huevos de helmintos, a diferencias geográficas y socioeconómicas de las poblaciones objeto de estudio, así como también a la técnica cuantitativa de Kato-Katz, que muchas veces muestra diferencias numéricas entre observadores.

Ninguno de los estudios realizados con anterioridad en Ruanda muestra datos sobre las intensidades de infección parasitaria en relación al sexo, edad o grado escolar, por lo que sería muy relevante que estudios venideros lo tuviesen en cuenta.

4.1.5.- EN RELACIÓN A LA EOSINOFILIA

No se ha encontrado publicaciones anteriores realizadas en Ruanda que contengan datos relacionados con la eosinofilia. En el presente estudio la incidencia ha sido baja debido a las bajas prevalencias de helmintos.

4.1.6.- EN RELACIÓN A LA ANEMIA

En este apartado se compara los resultados obtenidos en otros trabajos realizados en Ruanda en relación a la anemia. Teniendo en cuenta el valor medio de hemoglobina, se ha reportado con anterioridad los siguientes valores: 13,8 g/dL (MUPFASONI *et al.*, 2009), 13,3 g/dL (STAUDACHER *et al.*, 2014) y 13,4 g/dL (HEIMER *et al.*, 2015). Se observa que estas medias no distan mucho de la obtenida en el presente trabajo (13,5 g/dL).

MUPFASONI *et al.* (2009) encuentra en la Provincia Norte de Ruanda una prevalencia total de anemia del 4,9%, mientras que un estudio realizado en la Provincia Sur del país (STAUDACHER *et al.*, 2014), obtiene una prevalencia de la anemia del 18,2%, además de una prevalencia de anemia del 16,6% para población rural y del 19,7% para población urbana. DUSHIMIMANA *et al.* (2008) señalan que en todo el país hay prevalencias entre el 3,5% y el 7,1%, mientras que un estudio del Ministerio de Salud de Ruanda y del Instituto Nacional de Estadística de Ruanda (N.I.S.R., 2015) muestran en niños menores a 5 años una prevalencia de la anemia del 37% y del 19,2% en mujeres entre los 15 y 49 años.

En relación a la población infantil, el dato de este estudio dista bastante de los obtenidos en estudios anteriores y en el presente trabajo, lo cual esto puede deberse a variaciones en relación a la edad de la población utilizada en cada estudio y también debido a la localización geográfica, ya que según la provincia estos datos pueden variar.

Discusión

A pesar de ello, a modo general, todos estos estudios muestran que la anemia no es en sí muy elevada en el país. Factores nutricionales, socioeconómicos y genéticos, además de la baja incidencia de la malaria, del VIH y, relativamente, de los helmintos, pueden ser responsables por estas cifras relativamente bajas de anemia en el país.

Considerando a la anemia en relación al sexo, se ha demostrado que individuos del sexo masculino tienen casi dos veces más probabilidades de ser anémicos que individuos del sexo femenino (MUPFASONI *et al.* 2009). Sin embargo, en el presente trabajo no hubo diferencias significativas entre sexos, y que incluso el sexo femenino presentaba más anemia que el sexo masculino (57,7% vs. 42,3%).

En cuanto a la relación entre anemia y edad se ha observado diferencias estadísticamente significativas entre grupos de edad, donde niños con edades comprendidas entre los 11 y 13 años son menos anémicos que niños en edades inferiores (MUPFASONI *et al.* 2009). Además, esta disminución de la anemia según aumenta la edad también ha sido reportada por el Instituto Nacional de Estadística de Ruanda en población infantil con menos de 5 años (N.I.S.R., 2015), coincidiendo con el presente estudio con niños de edad más avanzada, donde también se muestra ese descenso de la prevalencia de anemia según aumenta la edad.

Ninguno de los estudios consultados sobre Ruanda relaciona la anemia con el grado escolar, por lo que no se hace referencia a este aspecto.

En relación a las posibles asociaciones entre anemia y parasitismo, hay pocos estudios en Ruanda que aborden el tema. DANAQUAH *et al.* (2014) relatan que no hay relación entre infección parasitaria por *G. intestinalis* y anemia, mientras que MUPFASONI *et al.* (2014) tampoco la encuentran entre multiparasitismo y anemia, hechos que coinciden con los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral. Sin embargo, STAUDACHER *et al.* (2014) observan relación de la anemia con la presencia de geohelmintos en población infantil de área urbana y HEIMER *et al.* (2015) relatan la infección por *G. intestinalis* asociada con bajos niveles de hemoglobina, donde 21,7% de los escolares de zona rural parasitados por esta especie de protozoo, presentaron anemia.

En el presente estudio no se ha observado asociaciones con estos parásitos, lo cual es posible que pueda explicarse debido a la baja prevalencia de la anemia encontrada en este trabajo. En cualquier caso, para poder llegar a entender los mecanismos entre la anemia y las parasitosis intestinales se requiere de más estudios.

En relación a las intensidades de parasitación, el estudio de MUPFASONI *et al.* (2009) muestra resultados pertinentes a este tema, ya que encuentran el 8,33%, el 8,89% y el 5,15% de escolares con anemia para infecciones leves por *T. trichiura*, *A. lumbricoides* y ancilostómidos respectivamente, lo que contrasta con 3,8%, 2,0% y 0,0% en la presente Tesis. En ambos trabajos la cantidad de escolares con anemia y parasitación leve es baja, por lo que no se pudo obtener mucha información entre la anemia y las infecciones leves. En ambos estudios, debido a la falta de casos con intensidades mayores, tampoco se pudo relacionar la anemia con infecciones de mayor intensidad.

4.1.7.- EN RELACIÓN AL ESTADO NUTRICIONAL

En relación a los índices antropométricos utilizados en los diferentes estudios nutricionales llevados a cabo en Ruanda, existe gran diversidad debido a las diferentes poblaciones objeto de estudio. En la bibliografía consultada, apenas 3 estudios son realizados con población de edad superior a los 5 años de edad (DUSHIMIMANA *et al.*, 2008; MUPFASONI *et al.*, 2009; STAUDACHER *et al.*, 2014).

Generalmente, los estudios sobre la desnutrición mundial utilizan la evaluación del estado nutricional de los niños con edad inferior a la de 5 años como representante del bienestar nutricional de toda una población. Esto ocurre porque es este grupo de edad el que suele sufrir el efecto de la desnutrición de forma más severa y con mayor morbilidad, excluyéndose de los estudios y de las intervenciones nutricionales a la población que tiene más de 5 años (BEST *et al.* 2010; FRYE *et al.*, 2013). Sin embargo, se está empezando a promover la investigación y las intervenciones nutricionales en individuos de edad escolar, ya que a esta edad aún es posible revertir la situación nutricional, especialmente en relación al bajo peso y a la delgadez (FRYE *et al.*, 2013)

Discusión

Además, se sabe que estar en estado desnutrido en las edades escolares puede inhibir el desarrollo físico y mental de los niños (BEST *et al.* 2010).

La Tabla 52 muestra resultados relacionados con los índices antropométricos que se han encontrado en otros trabajos realizados en Ruanda. Se observa que en Ruanda el tipo de desnutrición más frecuente es el desmedro, o la también llamada desnutrición crónica. Este tipo de desnutrición es bastante superior en relación a los datos obtenidos para la delgadez y al bajo peso. Se observa también que estas altas prevalencias se mantienen en la Provincia Norte del país (MUPFASONI *et al.*, 2009), e incluso, un estudio realizado en el país a nivel nacional en el año de 2010 (N.I.S.R.) afirma que la Provincia Norte es la que mayor tasa de desmedro tiene.

En relación al Bajo Peso, se observa que este índice tiene poca prevalencia en Ruanda y que el resultado obtenido en la Tesis se aproxima a los valores encontrados previamente por otros autores.

En relación a la delgadez, existen pocos trabajos y es posible que se deba a que muchos de ellos han sido realizados con población de edad inferior a los 5 años de edad, edades en las que el índice antropométrico de IMC/E no se aplica. A pesar de eso, tanto en el presente estudio, como en el trabajo de MUPFASONI *et al.* (2009), se observa que la prevalencia de este tipo de desnutrición es baja.

Las diferencias que hay entre los diferentes estudios se deben a que el estado nutricional es resultado de una serie de factores, como lo es el estado de salud del individuo, además de factores socioeconómicos y culturales entre otros.

Teniendo en cuenta el estado nutricional según el sexo, y en relación al desmedro, varios estudios muestran diferencias entre sexos siendo el masculino el más afectado por el desmedro (DUSHIMIMANA *et al.*, 2008; MUPFASONI *et al.*, 2009; N.I.S.R., 2010; N.I.S.R., 2015) coincidiendo con lo encontrado en el presente trabajo. Esto puede deberse a diferencias en el papel desempeñado entre sexos, en las familias y en la sociedad en general.

REFERENCIA (AUTOR)	Localización	%Población con Desmedro (T/E)	%Población con Bajo Peso (P/E)	%Población con Delgadez (IMC/E)
N.I.S.R. (1992)	Todo el país	48	4	-
DUSHIMIMANA <i>et al.</i> (2008)	Todo el país	53	57	-
	Provincia Norte	67	56	-
MUPFASONI <i>et al.</i> (2009)	Provincia Norte	38,5	-	8,1
N.I.S.R. (2010)	Todo el país	44	11	-
	Provincia Norte	51	10	-
IGNATIUS <i>et al.</i> (2012)	Provincia Sur	-	23,7	-
STAUDACHER <i>et al.</i> (2014)	Provincia Sur (rural + urbano)	27,2	13,8	-
	Provincia Sur (sólo rural)	43,3	23,3	-
N.I.S.R. (2015)	Todo el país	38	9	-
	Provincia Norte	39,2	9,3	-
TESIS DOCTORAL	Provincia Norte (rural)	32,8	8,5	2,1

Tabla 52.- Porcentajes de los diferentes estados nutricionales encontrados en la bibliografía consultada y en la presente Tesis Doctoral. T/E= Talla para la Edad; P/E= Peso para la Edad; IMC/E=Índice de Masa Corporal para la Edad; %= %= frecuencia de casos.

En relación al bajo peso, individuos del sexo masculino presentaron más frecuencia de este problema nutricional que el sexo femenino (12,7% vs. 10,2%) (N.I.S.R., 2010). No obstante, otro estudio realizado a nivel nacional en niños de edad inferior a 5 años no encontró diferencias entre sexos (N.I.S.R., 2015), lo que coincide con lo encontrado en el presente estudio (8,5% vs. 8,5%). Cambios biológicos, psicológicos y cognitivos asociados a un rápido desarrollo y crecimiento afectan directamente el estado nutricional en pre-adolescentes y adolescentes, y estas demandas son además diferentes entre los niños y las niñas (FRANCIS *et al.*, 2012).

Teniendo en cuenta la edad, MUPFASONI *et al.* (2009) describen que escolares con edades entre los 11 y 17 años sufren más desmedro que escolares de menor edad, hecho que coincide con otros estudios que afirman que el desmedro aumenta con la edad en la población infantil (N.I.S.R., 2010; HEIMER *et al.*, 2015). En el presente trabajo hubo diferencia significativa entre los grupos de edad. El grupo de edad donde hay más desmedro es el grupo etario entre los 14 y 18 años de edad (44,1%), seguido del grupo etario de entre 11 y 13 años (36,0%) y por último, el grupo etario de entre 6 y 10 años

Discusión

(25,5%), lo cual coincide con lo descrito por MUPFASONI *et al.* (2009), N.I.S.R. (2010) y por HEIMER *et al.* (2015). Probablemente, escolares de edades más avanzadas deban de haber estado más expuestos a factores que favorezcan la desnutrición crónica en comparación a las edades más tempranas. Además, a esto hay que añadir que la población en edad más avanzada sufre una demanda nutricional extra para pasar a la fase adulta, creando una necesidad de mayor energía que en niños que se encuentran en edad pre-escolar (FRANCIS *et al.*, 2012).

Considerando el estado nutricional y el parasitismo intestinal pocos estudios son los que establecen relaciones entre ambos. En Ruanda se relata que la parasitación por *G. intestinalis* pueda estar asociada con el bajo peso y bajos valores de T/E, además de que se relata que esta asociación pueda aumentar en las infecciones ocasionadas por el genotipo B, frente a la ocasionada por el genotipo A (IGNATIUS *et al.*, 2012). IGNATIUS *et al.* (2014) observan que individuos con infección de *G. intestinalis* presentan más bajo peso que aquellos que no están infectados (29,6% vs. 19,7%), siendo esta diferencia estadísticamente significativa. También se ha visto asociación entre *G. intestinalis* y el desmedro, aunque no se encontró relación con la delgadez (HEIMER *et al.*, 2015). En el presente estudio este parásito presenta asociación positiva significativa con el bajo peso y asociación positiva sin significancia con el desmedro. La asociación de *G. intestinalis* con la desnutrición puede estar relacionada con los daños causados en las paredes intestinales, lo que provocaría mala absorción de nutrientes (CARVALHO-COSTA *et al.*, 2007; BOEKE *et al.*, 2010).

En estudios anteriores realizados en Ruanda, también se ha encontrado relación estadísticamente significativa en la parasitación por geohelminetos y el desmedro (STAUDACHER *et al.*, 2014). En el presente trabajo hay asociación positiva entre desmedro y la infección de helmintos en general .

En el presente estudio no se observó asociación entre el desmedro y el resto de especies de geohelminetos lo cual no argumenta necesariamente el papel que juegan estas otras especies parásitas en el desmedro, o incluso, con los otros índices antropométricos, lo cual plasmaría la etiología multifactorial de la desnutrición y muestra el solapamiento de factores de riesgo para la desnutrición con la infección por geohelminetos.

En relación a la desnutrición y el multiparasitismo, y en este caso, con las intensidades de infección parasitaria, MUPFASONI *et al.* (2009) observó que escolares con infección simultánea de al menos dos especies de geohelminths, en intensidad moderada o alta, tienen más propensión a la delgadez que escolares que no están parasitados o que están infectados por apenas una especie parásita en intensidad leve. En la presente Tesis Doctoral no se observaron datos significativos para las infecciones simples de distintas intensidades, aunque considerando las coinfecciones de helmintos y sus diferentes intensidades, se ha obtenido asociación positiva y significativa con el desmedro en la parasitación simultánea por *T. trichiura* y *A. lumbricoides*, cuando la primera especie se encontraba en intensidad leve y la segunda en intensidad leve, moderada o elevada. Quizás, si en el presente estudio se hubieran encontrado más infecciones de intensidad moderada o elevada los datos podrían coincidir con lo observado por MUPFASONI *et al.* (2009).

4.1.8.- EN RELACIÓN A LOS FACTORES EXTRÍNSECOS

Este apartado se centra únicamente en abordar factores extrínsecos relacionados con el parasitismo intestinal dado que los factores extrínsecos son múltiples y muy variados en los demás estudios analizados de Ruanda.

No se han encontrado estudios realizados previamente en Ruanda que presentasen asociación entre el parasitismo intestinal y la presencia o ausencia de los padres. En el presente estudio no ha quedado claro ningún tipo de asociación, por lo que son necesarios más estudios para evidenciar de manera más segura si la presencia o ausencia del padre o de la madre es factor de riesgo para la parasitación intestinal.

En relación a la ocupación laboral de los padres se ha observado con anterioridad que cuando las figuras paternas se dedican a la agricultura hay mayor riesgo de parasitación por *G. intestinalis* (HEIMER *et al.*, 2015). En el presente trabajo no se encontró asociación significativa entre el sector laboral del padre con la infección por *G. intestinalis*. Esta diferencia entre ambos estudios puede deberse a que el trabajo de HEIMER *et al.* (2015) encuentra prevalencias más altas de *G. intestinalis* debido a que utiliza la técnica de PCR, por lo que, al tener mayor prevalencia, las asociaciones entre

Discusión

la infección y los factores de riesgo son más claros. A pesar de ello, el presente trabajo ha observado que cuando el padre se dedicaba al sector secundario el riesgo por la infección de protozoos intestinales disminuía y también se observó una asociación positiva significativa para la parasitación por *A. lumbricoides*. Este último dato en relación a la parasitación por *A. lumbricoides*, es difícil de interpretar y tal vez esto ocurra debido a factores de confusión por lo que se requiere de más estudios para aclarar esta relación.

En relación al sector laboral de la madre, se ha evidenciado que cuando la madre se dedica a un sector de trabajo que no se implica con la agricultura, hay menos riesgo de parasitación de geohelminetos, por lo que la dedicación a un trabajo diferente a la agricultura es un factor protector (STAUDACHER *et al.*, 2014). En el presente estudio, y en relación al sector laboral de la madre, se ha observado que el sector terciario ha actuado como factor protector contra la parasitación por helmintos en general y por la infección de cualquier parásito patógeno. Además, se ha observado que el sector secundario ha sido factor protector frente a las infecciones ocasionadas por protozoos. Conjuntamente, se observó que madres en el sector primario era un factor de riesgo para la parasitación por helmintos y por cualquier parásito patógeno. El sector laboral de los padres es importante en la definición de la calidad de vida de los núcleos familiares. Si el padre o madre se dedican más a actividades del sector primario, además de definir menos calidad de vida para sus familias, actúan como focos de transmisión de enfermedades para sus familias por trabajar directamente con el suelo y con animales, especialmente, en el caso de las madres que son las que suelen dedicarse más a los hogares.

No hay más estudios en Ruanda que relacionen el sector laboral del padre o la madre con las parasitosis intestinales, pero sí los hay relacionando el nivel de estudios de las poblaciones objeto de estudio. Un estudio muestra que no ha habido relación positiva y significativa entre la educación de los padres y la infección por *G. intestinalis* (IVAN *et al.*, 2013) mientras que otro estudio afirma que cuando el padre tiene educación superior a Primaria, hay menos riesgo de que los escolares sufran parasitación por *G. intestinalis*, aunque esto no ocurrió según el nivel de educación materno (HEIMER *et al.*, 2015).

A nivel de educación, se ha visto en población rural que cuando la madre no presenta estudios hay mayor propensión para la parasitación por geohelminetos; y que en población urbana, cuanto más alta es la educación paterna menor es el riesgo de parasitación por estos gusanos intestinales (STAUDACHER *et al.*, 2014). También, se ha visto mayores prevalencias de helmintos en mujeres VIH positivas y embarazadas que se encontraban desempleadas o que no tenían estudios (IVAN *et al.*, 2013). Tanto el nivel y tipo de empleo, como el nivel de educación, son importantes en la definición de la calidad de vida y estatus socioeconómico de las familias siendo un fuerte regulador del riesgo de infecciones.

En los estudios previos realizados en Ruanda no se encontró información sobre si el tipo de suelo en los hogares era un factor de riesgo para la parasitación intestinal. Sin embargo, en el presente estudio se observa que el suelo de tierra en los hogares es factor de riesgo para la parasitación por el grupo de helmintos en general y también para la parasitación por *T. trichiura* y por *A. lumbricoides*. Esto está seguramente relacionado con el ciclo de vida de estas dos especies de helminto.

En relación a la presencia de animales en la vivienda, IGNATIUS *et al.* (2012) observa que no hay asociación entre la posesión de ganado y la parasitación por *G. intestinalis*. Sin embargo, HEIMER *et al.* (2015) encontró asociación positiva y significativa para la parasitación por *G. intestinalis* en viviendas donde había cabras. En el presente trabajo no hubo grandes diferencias entre los escolares que tenían cabras en sus casas y los que no (21,6% vs. 21,0%).

En relación a la infección por geohelminetos, STAUDACHER *et al.* (2014) observaron asociación positiva y significativa con la presencia general de animales en el hogar y en especial, en aquellos escolares que tenían en sus hogares cabras y cerdos. En el presente trabajo, se ha encontrado asociación negativa y significativa con la presencia de animales en el hogar y la parasitación por *A. lumbricoides*. No obstante, cuando se analiza el tipo de animal en la vivienda, la asociación ya no se observa. También se ha encontrado en el presente trabajo asociación negativa y significativa entre la presencia de suidos en los hogares y la infección intestinal por cualquier especie de protozoo, dato que talvez haya sido ocasionado por algún otro factor de confusión. En relación a la presencia de cabras en los hogares, animal que se encuadra dentro del grupo de los

Discusión

bóvidos en el presente estudio, no ha habido diferencia estadísticamente significativa sin embargo, se ha obtenido mayor infección para el grupo de helmintos en general, para *T. trichiura* y para *A. lumbricoides*, en escolares que poseían este grupo de animales en sus casas, frente a escolares que no los tenían, siendo estos porcentajes 17,5% vs. 10,5%, 10,8% vs. 0,0% y 94,5% vs. 84,2%, respectivamente.

Otros estudios no contemplan el factor de riesgo del alojamiento nocturno de los animales. En este trabajo se observó que alojar a los animales dentro de la casa, durante la noche es factor de riesgo para la infección por *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii* y también por los protozoos y helmintos en general, por cualquier protozoo patógeno y por cualquier parásito patógeno. El alojamiento de animales dentro del hogar durante la noche en casas, que muchas veces están constituidas por uno o dos compartimientos, conlleva a un contacto más próximo y directo con los animales y consecuentemente con parásitos que están en contacto con los animales, como es el caso de varias especies de protozoos.

HEIMER *et al.* (2015) muestran datos en relación a la forma de eliminación de excretas y comenta que instalaciones de aseo no se han asociado significativamente con la parasitación por *G. intestinalis*, observándose lo mismo en el estudio de STAUDACHER *et al.* (2014) en relación a los geohelmintos. Sin embargo, en el presente trabajo se ha encontrado relación positiva y significativa del uso de letrinas con la infección para cualquier especie patógena de protozoos, cualquier parásito patógeno y también para el multiparasitismo. Precarias condiciones de vida, y el uso de letrinas sí favorecen a un contacto más directo con las excretas por lo que el ciclo de vida de muchos parásitos se mantiene, ocurriendo con mayor facilidad infecciones a través de la vía ano/mano/boca.

En Ruanda, y en relación al agua de consumo se ha comprobado que el tipo de fuente de agua no se relaciona con la infección por *G. intestinalis* (IGNATIUS *et al.*, 2012; HEIMER *et al.*, 2015). Sin embargo, para el parasitismo por helmintos se ha observado que mujeres que utilizaban agua por conducción tenían menos prevalencia de helmintos que aquellas mujeres que usaban agua de río (IVAN *et al.*, 2013). También se ha evidenciado asociación positiva y significativa para la parasitación por geohelmintos cuando los individuos estudiados hacían uso de agua de grifo público y compartido o cuando hacían uso de aguas provenientes de reservorios abiertos (STAUDACHER *et al.*,

2014). Además, en este mismo estudio se ha demostrado que la conciencia del uso del agua del grifo para prevenir enfermedades actúa como factor protector frente a la parasitación por geohelminetos.

El presente estudio no ha realizado asociaciones según la fuente de obtención del agua, aunque prácticamente todos los escolares usaban agua proveniente de fuentes. Lógicamente resulta difícil de establecer algún tipo de relación en cuanto a este factor y la parasitación intestinal por falta de otras fuentes de obtención de agua, aunque Sin embargo, el acceso de agua reduce el riesgo de las infecciones parasitarias.

En relación al agua de beber, se ha observado que estudiantes del país que no siempre consumen agua previamente hervida tienen mayor propensión a la parasitación intestinal (NIYIZURUGERO *et al.*, 2013). Igualmente, también se ha observado que la conciencia del uso de agua hervida para prevenir enfermedades por parte de la población estudiada es un factor de protección frente a la parasitación por geohelminetos (STAUDACHER *et al.*, 2014). En esta Tesis Doctoral, ha habido asociación estadísticamente positiva, y significativa, para aquellos escolares que no hierven el agua antes de beber y las infecciones por *A. lumbricoides*, por cualquier especie patógena de protozoo y por helmintos en general. Es sabido que, con el aumento de la temperatura del agua, muchos microorganismos que pueden encontrarse en ella son eliminados y dejan de ser un riesgo para la salud.

Considerando el factor de riesgo del consumo de vegetales cocidos, ninguno de los estudios realizados en territorio ruandés muestra información relacionada. HEIMER *et al.* (2015) afirman que la alimentación no se asocia significativamente a la parasitación por *G. intestinalis*, situación idéntica en el presente estudio para las especies parasitadas analizadas de forma individual y en grupos. El cocimiento de vegetales conlleva la eliminación de agentes etiológicos que pueden ser nocivos para la salud, aunque sería necesario más estudios que tengan en cuenta este factor, a fin de poder afirmar algo más concreto en relación a este asunto.

No ha habido registro anterior en Ruanda sobre la relación entre el andar descalzo y la parasitación intestinal, a excepción de un estudio que afirma que mujeres VIH positivas y embarazadas que no usaban frecuentemente calzado tenían un recuento

de huevos de helmintos más alto que aquellas mujeres que sí lo utilizaban (IVAN et al., 2013). A parte de ello, se ha demostrado que la conciencia por parte de la población ruandesa objeto de estudio, en cuanto al uso del calzado para prevenir enfermedades, es un factor protector frente a la parasitación por geohelmintos, siendo que aquellos que respondieron que eran conscientes de esto, resultaron estar menos parasitados que aquellos que no estaban conscientes (STAUDACHER et al., 2014). En el presente estudio, se observó como riesgo de infección el andar descalzo fuera del hogar con la infección por *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*, *G. intestinalis*, *T. trichiura*, por cualquier protozoo patógeno o por helmintos en general, mientras que el andar descalzo en el hogar lo ha sido con la infección por *G. intestinalis*, por cualquier protozoo patógeno y por cualquier parásito patógeno.

El andar descalzo conlleva pisar lugares que pueden estar contaminados por microorganismos infecciosos, principalmente geohelmintos, siendo la principal vía de infección para los ancilostómidos, que en el presente estudio tuvieron una prevalencia baja. Se ha observado en la población escolar de Nemba que un 58,7% de los escolares no solían andar calzados fuera de casa y un 67,0% no usaba calzado en sus hogares, porcentajes son relativamente bajos para estar en África. En cualquier caso, en Ruanda está prohibido por ley el andar descalzo (CESSOU, 2014) lo cual para Nemba, una aldea rural, puede que los habitantes no sigan tanto la ley y, en consecuencia se muestra en los porcentajes del uso del calzado. Sin embargo, la efectividad de esta prohibición queda plasmada en la prevalencia de los ancilostómidos, tanto en este estudio como en los demás estudios realizados en el país. Además, en el estudio de STAUDACHER et al. (2014) se observa que la conciencia en población rural sobre el andar descalzo para prevenir helmintos ha sido de un 33,3%. Considerando el país, y el hecho de que es zona rural, el hecho de que 33,3% de población infectada atribuya el andar descalzo a padecer enfermedades, es una cifra alta.

Finalmente, y en cuanto a la higiene personal, se ha descrito previamente en Ruanda relaciones débiles entre el lavado de manos y la infección por geohelmintos (STAUDACHER et al., 2014) y no se reporta relación con la infección por *G. intestinalis* (HEIMER et al., 2015). En el presente estudio, sí se han encontrado relaciones evidentes considerando la práctica del lavado de manos. El no lavado de manos antes de comer,

es factor de riesgo para la parasitación por cualquier parásito patógeno, el no lavado de manos antes de comer con jabón, es factor de riesgo para la parasitación por cualquier especie de protozoo patógeno y por cualquier parásito patógeno. Mientras que el no lavado de manos después de ir al baño es factor de riesgo para la infección por *G. intestinalis*, por cualquier protozoo patógeno y por cualquier parásito patógeno, aunque no se observó asociación alguna cuando esta práctica se realizaba con jabón. Además, el no lavarse o ducharse todos los días es factor de riesgo para la presencia de *T. trichiura*, *A. lumbricoides* y cualquier helminto en general. También se ha observado que la mayoría de los escolares se lavan las manos antes de comer (74,4%). Sin embargo, la mayoría no se las lava después de ir al baño (66,0%) y no se lava o baña diariamente (74,4%). Como es sabido, el riesgo de las parasitosis intestinales se reduce en sujetos que lavan sus manos regularmente, especialmente si hacen uso del jabón, y que tienen buena higiene personal. Teniendo en cuenta esto, así como las asociaciones observadas, queda claro que la mejora de los hábitos higiénicos en la población infantil de Nemba puede ser gratificante.

En relación al análisis multivariante es difícil compararlo con los resultados obtenidos por otros autores ya que el conjunto de variables es muy diferente. Sin embargo, los obtenidos en el presente trabajo muestran que el no usar calzado fuera del hogar es factor de riesgo para la parasitación por *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*. Padres y madres dedicados al sector secundario son un factor de protección contra la infección por protozoos en general y que el no lavarse, o bañarse todos los días, es factor de riesgo para la parasitación por cualquier helminto.

Considerando todo lo descrito, se observa que hay factores de riesgo para las parasitosis intestinales relacionados con la calidad de vida y hábitos de higiene de los escolares de Nemba.

Debe explicarse que teniendo en cuenta todos los factores de riesgo, y también los demás factores que se han asociado en el presente trabajo con el parasitismo intestinal (eosinofilia, anemia y estados de desnutrición), el diseño de estudio transversal, dónde el punto de vista metodológico, hace imposible determinar causalidad temporal, por lo que para comprender de mejor manera los factores que interactúan con el parasitismo intestinal en regiones de alta endemicidad, lo ideal serían

estudios longitudinales de gran escala, los cuales muchas veces no son posibles debido a la difícil continuidad del trabajo de campo y debido a que exigen una mayor financiación.

Además, en estos estudios transversales, el hecho de que haya asociación no significa necesariamente causalidad y, en el caso de la desnutrición, por ejemplo, la dirección de la asociación puede ser en ambos sentidos. La reducción del tamaño de las muestras en los análisis de subgrupos (sexo, edad, grupo escolar, etc.) aumenta la probabilidad de errores estadísticos. Sin embargo, muchas de las asociaciones que se han encontrado en el presente estudio, como se ha mostrado en este apartado, siguen la línea de lo confirmado por otros estudios similares.

4.1.9.- EN RELACIÓN AL ANÁLISIS MOLECULAR

El examen microscópico coproparasitológico a nivel de especie intestinal tiene limitaciones, especialmente en lo que se refiere a la identificación adecuada entre las especies *E. dispar* y *E. histolytica*, ya que microscópicamente son morfológicamente idénticas, pudiendo confirmarse la presencia de *E. histolytica* únicamente cuando se observan trofozoítos hematófagos en las heces (MURRAY *et al.*, 2003).

En Ruanda no existe, hasta la fecha, ningún estudio previo que refiera la utilización de técnicas moleculares discriminatoria entre ambas amebas. En el presente estudio, a pesar de haber podido utilizar un número escaso de muestras fecales para el análisis molecular, debido a problemas en la fijación de la muestra, se ha estandarizado la técnica de análisis molecular basada en la PCR, la cual permite la diferenciación coproparasitológica entre *E. histolytica* y *E. dispar*, dando como resultado una mayor prevalencia de *E. histolytica* que de *E. dispar*. Este resultado, aunque realizado con un escaso número de muestras, enfatiza la importancia de que futuros estudios aborden este tema.

4.2.- EN RELACIÓN A OTROS ESTUDIOS EN OTROS ESCENARIOS PRÓXIMOS

En el siguiente apartado se discuten a fondo los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral con trabajos realizados en escenarios próximos. Ya que el escenario africano es muy amplio, dado que son muchos países, se ha considerado los trabajos más relevantes realizados en países que hacen frontera con Ruanda, es decir con estudios parasitológicos realizados en Uganda, República Democrática del Congo, Burundi y Tanzania (Figura 30).



Figura 30.- Localización geográfica de los países que hacen frontera con Ruanda.

A nivel de Uganda, las referencias bibliográficas utilizadas para poder observar este apartado han sido: TUMWINE *et al.*, (2003), KABATEREINE *et al.*, (2005), SHAPIRO *et al.*, (2005), KABATEREINE *et al.*, (2007), KOLACZINSKI *et al.*, (2007), ZHANG *et al.*, (2007), MUKAYA *et al.*, (2009), STANDLEY *et al.*, (2009), WOODBURN *et al.*, (2009), GREEN *et al.*, (2011), ANKARKLEV *et al.*, (2012), FRANCIS *et al.*, (2012) y MCELLIGOT *et al.*, (2013).

En la República Democrática del Congo, la situación del parasitismo intestinal se ha observado con la siguiente bibliografía: WUMBA *et al.*, (2010), KANOBANA *et al.*, (2011), KABONGO *et al.*, (2012), RIMOIN & HOTEZ, (2013), MATANGILA *et al.*, (2014) y NUNDU *et al.*, 2014.

En Burundi muy pocos son los estudios relacionados con el parasitismo intestinal. La bibliografía consultada ha sido: GRYSEELS *et al.*, (1987), FLOCH *et al.*, (1988), CARABIN *et al.*, (2000), NSENGIYUMVA *et al.*, (2003), CLEMENTS *et al.*, (2009), KARAGIANNIS-VOULES *et al.* (2014) y NDAYISHIMIYE *et al.*, (2014).

Finalmente, Tanzania ha sido el país que más referencias presenta en relación al parasitismo intestinal. La bibliografía consultada ha sido: GUYAT *et al.*, (2001), MONTRESOR *et al.*, (2001), ALBONICO *et al.*, (2003), HOUPPT *et al.*, (2005), KNOPP *et al.*, (2009), KNOPP *et al.*, (2010), MAZIGO *et al.*, (2010 a, b), EOM *et al.*, (2011), VEENEMANS *et al.*, (2011), SPEICH *et al.*, (2012), MWANJALI *et al.*, (2013), SPEICH *et al.*, (2013), OUTWATER *et al.*, (2013), KINUNG'HI *et al.*, (2014), LYMIO *et al.*, (2014), MUGONO *et al.*, (2014) y SALIM *et al.*, (2014, 2015).

4.2.1- EN RELACIÓN AL ESPECTRO PARASITARIO INTESTINAL Y LAS PREVALENCIAS DE PARASITACIÓN

A continuación, se analiza la bibliografía de cada país en relación al espectro parasitario y a las prevalencias de parasitación. También se compara estos datos con los resultados observados en el presente trabajo y en estudios previos realizados en Ruanda.

A) UGANDA

Teniendo en cuenta la bibliografía consultada sobre este país, se constata que hay un espectro total de parasitación intestinal de 9 especies, siendo estas: *E. histolytica*/ *E. dispar*, *G. intestinalis*, *Cryptosporidium* spp., *H. nana*, *E. vermicularis*, *T. trichiura*, *A. lumbricoides*, ancilostómideos y *S. mansoni*.

Pocos son los estudios realizados en este país que muestren prevalencias de protozoos. En un estudio realizado en 2.446 niños hospitalizados por diarrea mediante técnica de Zihel-Neelsen y PCR-RLFP, se ha detectado *Cryptosporidium* spp. con una prevalencia del 25% (TUMWINE et al., 2003). Otro estudio realizado mediante microscopía y PCR, en 427 niños aparentemente saludables, y con edades comprendidas entre los 0 y 12 años de edad, muestra una prevalencia de *G. intestinalis* del 20,1% (ANKARKLEV et al., 2012). Además, se ha observado también prevalencias del 12% para *G. intestinalis* y del 10% *E. histolytica/E. dispar*, en un estudio realizado en 695 personas con edades entre los 3 y 76 años, realizado mediante un test rápido de detección de antígenos (MCELLIGOT et al., 2013). Se observa que la prevalencia para *Cryptosporidium* spp. encontrada en Uganda es superior a la encontrada en el presente estudio, y también en Ruanda en general, aunque esto probablemente sea debido a que las técnicas de diagnóstico empleadas sean más sensibles. Sin embargo, son necesarios más estudios tanto en Uganda como en Ruanda sobre *Cryptosporidium* spp., a fin de conocer más a fondo la prevalencia de este parásito en estos países.

En relación a *G. intestinalis*, se observa que el resultado obtenido por ANKARLEV et al. (2012) se aproxima bastante al encontrado en el presente estudio (21%), aunque usa técnicas más sensibles, también existe bastante diferencia con la prevalencia del estudio de MCELLIGOT et al. (2013). Esto es probablemente debido a la diferencia entre técnicas usadas ya que falsos negativos en pruebas rápidas de coproantígenos suelen ocurrir, especialmente cuando hay baja densidad de parasitación (WEITZEL et al., 2006).

Finalmente, en relación a *E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii* se observa, en el presente estudio, una prevalencia que es casi el doble que la encontrada en el estudio de MCELLIGOT et al. (2013) mediante el test rápido de detección de antígenos. No hay más estudios que reporten la presencia de este complejo de especies de protozoos en Uganda, por lo que serían necesarios más estudios sobre este complejo para analizar mejor los resultados obtenidos en el presente estudio. No obstante, estas diferencias pueden haber ocurrido a causa de los métodos de diagnóstico utilizados y a causa de que son diferentes condiciones geográficas con diferentes condiciones de calidad de vida, como lo son por ejemplo las fuentes de agua de consumo.

Sin embargo, a nivel de helmintos los resultados son más concluyentes, por lo que se ha realizado la Tabla 53 a fin de organizar mejor los datos obtenidos.

En esta Tabla se observa que la mayoría de los estudios son estudios epidemiológicos llevados a cabo mediante la técnica de Kato-Katz que estudian las prevalencias de los geohelminetos. En general, se puede observar que la prevalencia de *T. trichiuris* se encuentra en el país entre 0,2%-12,9%; de *A. lumbricoides* entre 0,2%-17,4%; y los ancilostómidos entre 1,8%-50,9%. El porcentaje obtenido en el presente estudio entra dentro de los rangos de Uganda para *T. trichiura* y *A. lumbricoides*. Sin embargo, se observa que los porcentajes obtenidos para los ancilostómidos son mucho más elevados en Uganda que el encontrado en el presente estudio, e incluso se observa que son los ancilostómidos las especies parasitarias más prevalentes en Uganda. Teniendo en cuenta los resultados de este país vecino a Ruanda, se observa que las medidas del gobierno ruandés, en relación al uso del calzado en la población, tienen impacto en el control de la ancilostomiasis en Ruanda.

En general, las infecciones ocasionadas por los ancilostomideos en Uganda, son muy frecuentes y se encuentran dispersas por todo el país, mientras que las infecciones por *A. lumbricoides* y *T. trichiura* son menos frecuentes y tienen mayores prevalencias en los distritos del sudoeste del país (KABATEREINE *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2007).

A.1.) EN RELACIÓN AL SEXO

En Uganda se ha reportado diferencia entre sexos con la parasitación por *G. intestinalis* (aunque no se reporta si esta diferencia es estadísticamente significativa), así como por *E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*, dónde el sexo masculino es el más afectado (MCELLIGOT *et al.* 2013).

REFERENCIA (AUTOR)	KABATEREINE <i>et al.</i> (2005)	SHAPIRO <i>et al.</i> (2005)	KABATEREINE <i>et al.</i> (2007)	ZHANG <i>et al.</i> (2007)	MUKAYA <i>et al.</i> (2009)	STANDLEY <i>et al.</i> (2009)	WOODBURN <i>et al.</i> (2009)	GREEN <i>et al.</i> (2011)	FRANCIS <i>et al.</i> (2012)	TESIS DOCTORAL
CARACTERÍSTICAS MUESTRALES Tamaño y edad muestral	20185 escolares (5 a 20 años)	856 personas	1871 escolares (6 a 14 años)	4351 niños (6 a 11 años)	395 pacientes (>18 años)	27 colegios (escolares de 6 a 10 años)	2507 mujeres embarazadas (14 a 49 años)	573 pre-escolares (0 a 6 años)	432 escolares (6 a 14 años)	674 escolares (6 a 18 años)
TÉCNICA UTILIZADA	KK	KK	KK	KK	KK	KK	KK	KK	KK	VD, R, KK
ESPECIES PARASITAS	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Helmintos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18,1
<i>Hymenolepis diminuta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
<i>Hymenolepis nana</i>	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	0,3
<i>Taenia</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3
<i>Enterobius vermicularis</i>	-	-	-	-	-	-	0,05	-	-	0,1
<i>Trichuris trichiura</i>	5,0	8,1	1,6	2,0	-	12,9	9,0	4,6	0,2	11,1
<i>Ascaris lumbricoides</i>	6,3	17,4	0,6	2,8	-	9,3	2,3	0,2	3,1	6,8
Ancylostomidae gen. sp.	43,5	32,1	10,7	50,9	9,1	2,4	44,5	1,8	10,9	0,3
<i>Schistosoma mansoni</i>	-	-	80,0	42,4	-	92,6	18,3	45,9	1,9	0

Tabla 53.- Prevalencias parasitarias en relación a la parasitación por helmintos en Uganda. KK= Kato-Katz; R= Técnica de Ritchie; VD= visión directa; %= frecuencia de casos.

En relación a los geohelminetos, no ha habido diferencias estadísticamente significativas entre sexos (SHAPIRO *et al.*, 2005), ni tampoco individualmente para los ancilostómidos (ZHANG *et al.*, 2007). En el presente estudio, aunque sin diferencias significativas, el sexo masculino se encuentra ligeramente más parasitado por helmintos en general y por los ancilostómidos, que el femenino, mientras que lo contrario se observa para *E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

A.2.) EN RELACIÓN A LA EDAD

A cerca de la edad, se ha encontrado en Uganda mayor parasitación por *G. intestinalis* en los grupos de edades más tempranas (de 3 a 10 años de edad) que en los grupos de edad más avanzada (de 11 a 76 años), mientras que para el complejo *E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii* se ha observado que la infección permanece constante a lo largo del espectro de edad (MCELLIGOT *et al.*, 2013).

Considerando la parasitación por *T. trichiura* y *A. lumbricoides*, se ha observado que el pico de parasitación ocurre entre los 5 y 10 años de edad (SHAPIRO *et al.*, 2005).

En relación a la edad, y lo reportado previamente en Uganda sobre la parasitación por *G. intestinalis*, se observa que el parasitismo intestinal afecta más a los grupos de edad temprana y que luego esta parasitación declina en las edades más avanzadas. Probablemente esto se deba a que estas edades se encuentran frente a una mayor exposición de este enteroparásito dentro de las precarias condiciones socioeconómicas en las que viven.

En el presente estudio, la parasitación por *A. lumbricoides* se observó mayor en el grupo etario de 6 a 10 años, lo que coincide con lo reportado en Uganda (SHAPIRO *et al.*, 2005; STANDLEY *et al.*, 2009). Esto contrasta con la parasitación por *T. trichiura*, dónde el pico de infección ocurre entre los 14 y 18 años de edad, aunque en Ruanda las mayores parasitaciones por geohelminetos en general, ocurren con mayor frecuencia en las edades más tempranas (STAUDACHER *et al.*, 2014).

A.3.) EN RELACIÓN AL GRADO ESCOLAR

Ninguno de los trabajos realizados con escolares en Uganda analiza a la población objeto de estudio en relación al nivel escolar cursado.

B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO

Teniendo en cuenta la bibliografía consultada sobre este país, se constata que hay un espectro total de parasitación intestinal de 11 especies parasitas, siendo estas: *E. histolytica/ E. dispar*, *G. intestinalis*, *Cryptosporidium spp.*, *Isospora belli*, *Encephalitozoon intestinalis*, *Enterocytozoon bieneusi*, *Sarcocystis hominis*, *E. vermicularis*, *T. trichiura*, ancilostómideos y *S. mansoni*. A pesar de que se han realizado menos estudios sobre el tema que en Uganda, presenta mayor espectro parasitario al encontrado en Ruanda.

Cabe decir que se ha encontrado especies no mencionadas con anterioridad, ni en Ruanda ni en Uganda, tales como: *Isospora belli*, *Encephalitozoon intestinalis*, *Enterocytozoon bieneusi* y *Sarcocystis hominis*. Logicamente, esto se debe a que se han utilizado diferentes técnicas a las empleadas en el presente trabajo y en otros trabajos consultados previamente en la bibliografía, técnicas tales como: tinción tricrómica modificada de Weber, pruebas de inmunofluorescencia y PCR.

En relación al parasitismo intestinal total se ha encontrado una prevalencia del 24,6% en 175 pacientes hospitalizados con VIH de edad superior a los 15 años, siendo esta prevalencia inferior a las encontradas en Ruanda, a pesar de que esto puede deberse a diferencias en cuanto a las poblaciones objeto de estudio (WUMBA *et al.* 2010).

En cuanto a los protozoos, no se han encontrado datos referentes a la parasitación de protozoos en general en este país, mientras que se han reportado prevalencias para *E. histolytica/ E. dispar* (5,1%), *G. intestinalis* (1,7%), *Cryptosporidium spp.* (0,7%), *Isospora belli* (1,7%), *Encephalitozoon intestinalis* (0,6%), *Enterocytozoon bieneusi* (5,1%), *Sarcocystis hominis* (0,6%) (WUMBA *et al.*, 2010). Se observa que las prevalencias observadas en la República Democrática del Congo para *E. histolytica/ E.*

dispar y *G. intestinalis* son bastante inferiores a las obtenidas en el presente trabajo. Ello puede deberse a que la población objeto de estudio tiene características diferentes a las del presente estudio, como lo es la edad, ya que ese trabajo está realizado con personas de edad superior a 15 años. Además, a modo general, las prevalencias son también inferiores a las observadas en otros trabajos realizados en Ruanda y en Uganda. A pesar de ello, la prevalencia de *Cryptosporidium* spp. se aproxima bastante a la encontrada en el presente trabajo (0,6%), aunque es cierto que en el trabajo de WUMBA *et al.* (2010) este porcentaje tiene mayor peso, ya que tiene una población total de menor tamaño. Por tanto *Cryptosporidium* spp. ha tenido mayor impacto en su población que en la del presente trabajo, lo cual se debe a que la población estudiada es VIH positiva.

En relación a los helmintos, para *E. vermicularis* se ha encontrado una prevalencia de 0,6% (WUMBA *et al.*, 2010), prevalencia baja y similar a las previamente relatadas en Ruanda. Para *T. trichiura* se han reportado prevalencias de 0,6% (WUMBA *et al.*, 2010), de 26,3% (MATANGILA *et al.*, 2014) y de 44,7% (NUNDU *et al.*, 2014). Se estima que aproximadamente 31 millones de personas padecen de esta nematodiasis en el país, ocupando el segundo lugar en el continente africano (RIMON & HOTEZ, 2013). En relación a *A. lumbricoides*, se ha mostrado prevalencias para esta especie de un 4,0% (WUMBA *et al.*, 2010), del 20,1% (MATANGILA *et al.*, 2014) y del 48,2% (NUNDU *et al.*, 2014). Se estima que 23 millones de personas la padezcan en el país, ocupando con esa cifra el tercer puesto en el continente africano (RIMON & HOTEZ, 2013). En el presente trabajo, tanto para *T. trichiura* como para *A. lumbricoides*, las prevalencias han sido inferiores a la mayoría de las prevalencias citadas en la República Democrática del Congo, exceptuando las prevalencias citadas por WUMBA *et al.* (2010). Esto puede deberse a los problemas políticos y conflictos armados que hacen que la población viva en condiciones más precarias y con peor saneamiento básico que la población ruandesa.

En relación a los ancilostómidos se ha reportado prevalencias del 1,1% (WUMBA *et al.*, 2010), del 0% (MATANGILA *et al.*, 2014) y del 1,4% (NUNDU *et al.*, 2014), pareciendo muy escasa la presencia de este parásito en la República Democrática del Congo, aunque se estima que ocupe el segundo puesto en África (RIMON & HOTEZ, 2013). Las bajas prevalencias de ancilostomiasis coinciden con los datos obtenidos en el presente trabajo y con otros estudios ruandeses, y al mismo tiempo no coincide con lo

reportado en Uganda donde la ancilostomiasis es más frecuente. También, un estudio realizado en 1.014 personas, con edad superior a un año, ha reportado prevalencia para *Taenia solium* de 0,33%, la cual se aproxima bastante también a la encontrada en el presente estudio. Sin embargo, en relación a la República Democrática del Congo sería necesario más estudios para entender más a fondo la distribución todo el parasitismo intestinal.

B.1.) EN RELACIÓN AL SEXO

Solamente se hace referencia a la relación entre el parasitismo intestinal y el sexo en una de las bibliografías consultadas, en la cual se analizan a 616 escolares entre los 4 y 13 años mediante la técnica de Kato-Katz (MATANGILA *et al.*, 2014). En este estudio, se concluye que el sexo femenino tiene menos riesgo de parasitación por geohelminetos, que aquellos escolares del sexo masculino. No hay datos en relación al sexo y al parasitismo por especies de protozoos.

A pesar de lo expuesto, en la presente Tesis no ha habido diferencia estadísticamente significativa entre sexos. Sin embargo, se ha observado que el sexo masculino está ligeramente más afectado que el sexo femenino, en relación al grupo de helmintos en general y en relación a la parasitación por *T. trichiura*, *A. lumbricoides*, e incluso en relación a la parasitación por ancilostomideos. En Ruanda, además, se ha encontrado que el sexo masculino presentaba mayor parasitación que el femenino para *S. mansoni* (HANOTIER & GIGASE, 1981). Sin embargo, en Uganda no se ha observado diferencias entre sexos para ningún helminto (SHAPIRO *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2007). A pesar de ello, pocos son los estudios que relacionan ambas variables, tanto en Ruanda y Uganda como en la República Democrática del Congo, por lo que para entender mejor esta relación, y evidenciar con más precisión, hacen falta más estudios en todos estos países.

B.2.) EN RELACIÓN A LA EDAD

El mismo estudio citado en relación al parasitismo intestinal y el sexo en la República Democrática del Congo, afirma que los escolares de edad más temprana tienen menos riesgo de parasitación por geohelminintos (MATANGILA *et al.*, 2014). Esto coincide con uno de los estudios realizados en Ruanda en relación a especies de helmintos (HANOTIER & GIGASE, 1981), discordando con estudios ruandeses y ugandeses (STAUDACHER *et al.*, 2014; SHAPIRO *et al.*, 2005). En relación al presente estudio, no ha habido diferencias estadísticamente significativas en relación a la edad y los helmintos, aunque el grupo de edad más avanzada ha tenido mayor porcentaje de parasitación para la infección por el grupo de los helmintos, en general, y por *T. trichiura*.

B.3) EN RELACIÓN AL GRADO ESCOLAR

Ninguno de los trabajos realizados con escolares en la República Democrática del Congo analiza a la población objeto de estudio en relación al nivel escolar cursado.

C) BURUNDI

Teniendo en cuenta la bibliografía consultada sobre este país, se ha observado un espectro total de parasitación intestinal de 7 especies, siendo estas: *Cryptosporidium* spp., *I. belli*, *T. trichiura*, *A. lumbricoides*, los ancilostómidos, *Strongyloides stercoralis* y *S. mansoni*.

En relación al parasitismo intestinal, sólo se ha encontrado un estudio que muestre prevalencias en relación a especies de protozoos, en el cual se ha encontrado en 100 pacientes VIH: *I. belli* (20%), *Cryptosporidium* spp. (15%) y *Strongyloides stercoralis* (10%) (FLOCH *et al.*, 1988). En relación a la parasitación por helmintos y sus prevalencias, se ha detectado estudios que tratan fundamentalmente sobre la infección por *S. mansoni*, mostrando una prevalencia para este parásito del 19% (GRYSEELS *et al.*, 1987), del 9,5% (CARABIN *et al.*, 2000) y del 11% (CLEMENTS *et al.*, 2009). Modelos geoestadísticos han reportado para el país una prevalencia de geohelminintos del 49%; una prevalencia de *T. trichiura* del 13,5%; para *A. lumbricoides* del 16,2%; y para

ancilostómidos del 30,9% (KARAGIANNIS-VOULES *et al.*, 2014). Así mismo, también se ha afirmado que los geohelminfos y *S. mansoni* están ampliamente extendidos en el país, llegando a una prevalencia del 59,7% (NDAYISHIMYE *et al.*, 2014). Finalmente, se ha encontrado en este país una prevalencia de cisticercosis del 40,8%, lo que hace afirmar que en Burundi debe de ocurrir la infección intestinal por *T. solium* (NSENGIYUMVA *et al.*, 2003).

Es complicado evidenciar algo en relación a estos datos de Burundi, ya que son pocos los estudios coprológicos llevados a cabo en el país, y en el caso de los protozoos son antiguos los datos. En relación al parasitismo intestinal no se ha encontrado información ni en relación al sexo, ni a la edad y ni en relación al grado escolar cursado.

D) TANZANIA

Teniendo en cuenta la bibliografía consultada sobre este país se constata que hay un espectro total de parasitación intestinal de 18 especies, siendo estas: *E. coli*, *E. hartmanni*, *E. histolytica*/ *E. dispar*, *E. nana*, *Iodamoeba bütschlii*, *G. intestinalis*, *C. mesnili*, *Cryptosporidium* spp., *B. hominis*, *H. diminuta*, *H. nana*, *Taenia* sp., *E. vermicularis*, *T. trichiura*, *A. lumbricoides*, ancilostómidos, *S. stercoralis* y *S. mansoni*. De esta manera se observa que el espectro parasitario es más extenso que el relatado en los demás países descritos y de igual número que el encontrado en Ruanda, teniendo en cuenta los datos del presente trabajo y los reportados con anterioridad en Ruanda.

En relación a la infección por protozoos, el protozoo con mayor prevalencia reportado en Tanzania ha sido *E. coli* (Tabla 54). Esto coincide con lo reportado en un otro estudio realizado en Ruanda (IGNATIUS *et al.*, 2012), aunque no coincide con el presente estudio, dónde la especie más prevalente es *E. nana*.

Además, se observa que los datos de Tanzania en relación a *E. histolytica*/ *E. dispar* se aproximan al encontrado en el presente estudio, mientras que el porcentaje encontrado en nuestra Tesis para *G. intestinalis*, entra dentro del rango reportado en Tanzania. Solamente un estudio ha hecho referencia a la infección por *Cyptosporidium* spp. en Tanzania (HOUPY *et al.* 2005), en el cual se observa que esta prevalencia es bastante superior a la encontrada en el presente trabajo, en Ruanda en general y en la

República Democrática del Congo. No obstante cabría considerar que la población objeto de ese estudio era VIH positiva y se asemeja a la encontrada en Burundi también en población inmunodeprimida (FLOCH *et al.*, 1988). En relación a este dato, en Uganda se observa que es el país con la prevalencia más alta para este parasito intestinal (TUMWINE *et al.*, 2003) y esto se debe a que se utilizó como técnica complementar a la Ziehl-Neelsen, la PCR-RLFP.

Llama la atención la escasez de estudios que hay sobre *Cyptosporidium* spp en todos los países analizados, ya que entre los cinco solamente se han encontrado 6 estudios sobre este parásito, siendo algunos de ellos no muy actuales (BOGAERTS *et al.*, 1981; FLOCH *et al.*, 1988; TUMWINE *et al.*, 2003; WUMBA *et al.*, 2010; IGNATIUS *et al.*, 2012; SPEICH *et al.*, 2013; FLOCH *et al.*, 20013). Es importante que se realicen más estudios sobre este parasito, además del parasitismo intestinal por protozoos en general en estas regiones, ya que se trata de países con poco acceso al saneamiento básico por parte de la población, siendo escasa aquella que tiene acceso a fuentes de agua mejoradas (LYMIO *et al.*, 2014), además de las altas prevalencias de VIH, por lo que se supone que estas prevalencias deben ser mayores que las ya reportadas. A pesar de que son pocos los estudios realizados en Tanzania, que muestren datos sobre protozoos, SPEICH *et al.* (2013) afirma que son un grave problema de salud pública en Tanzania, así como también lo son en el presente trabajo.

La Tabla 55 muestra los datos bibliográficos en Tanzania a respecto de la parasitación por helmintos. Se observa que en la mayoría de los estudios consultados, los helmintos más prevalentes han sido los ancilostómidos. Estas prevalencias son bastante superiores a las encontradas en Ruanda en general y en la República Democrática del Congo y relativamente similares a las encontradas en Uganda y Burundi, aunque sí que es cierto que son muy pocos los estudios en la República Democrática del Congo y en Burundi para este parásito.

A modo general, cabe resaltar las prevalencias de helmintos reportadas en los países vecinos de Ruanda, las cuales son relativamente inferiores a las observadas en el país del presente estudio. Sin embargo, esto puede deberse a la instauración de un programa de control de enfermedades tropicales olvidadas en Ruanda, en el cual se

contempla el tratamiento masivo anti-helminítico (albendazol, mebendazol y praziquantel) en la población infantil, de dos en dos años (M.O.H., 2010).

Al igual que en Uganda, en Tanzania se observa unas bajas prevalencias para *T. trichiura* y *A. lumbricoides*, en comparación a la parasitación por los ancilostomidos. Se ha afirmado que estos parásitos son más prevalentes en las islas (Pemba y Zanzíbar) que en Tanzania continental, siendo su presencia insignificante en muchas partes del país y teniendo una máxima prevalencia en zona continental del 7% para ambos parásitos en poblaciones que residen por la zona del Kilimanjaro, al noreste del país (OUTWATER *et al.*, 2013). Además, la baja presencia de estos parásitos puede deberse también a una serie de intervenciones gubernamentales que se han realizado en Tanzania a fin de combatir a los geohelminintos (SALIM *et al.*, 2014).

En la la misma Tabla 55, llama la atención la alta prevalencia de *E. vermicularis* en Tanzania, en comparación a lo reportado en el presente estudio y los demás países analizados. No obstante, esto probablemente se deba a la técnica empleada, ya que pocos estudios utilizan la cinta de Graham, y que es la técnica ideal para el diagnóstico de la enterobiasis. Dada esta alta prevalencia de *E. vermicularis* en Tanzania, sería interesante que se realizaran estudios posteriores en Ruanda utilizando cintas de Graham, a fin de observar más a fondo la prevalencia de este parásito.

A pesar de todo lo relatado, cabe decir que las diferencias encontradas en todos los estudios analizados de todos los países detallados, están sujetas a variaciones geográficas y socioeconómicas, a diferentes técnicas de diagnóstico, además de que el análisis microscópico conlleva con frecuencia a un mal diagnóstico, pues requiere personal muy especializado y con experiencia.

D.1.) EN RELACIÓN AL SEXO

Se ha descrito en Tanzania que el riesgo de infección por protozoos es mayor en el sexo femenino que en el masculino (MAZIGO *et al.*, 2010a; SPEICH *et al.*, 2013), así como para la infección por *E. histolytica*/ *E. dispar* (SPEICH *et al.*, 2013).

REFERENCIA (AUTOR)	HOUPT <i>et al.</i> (2005)	MAZIGO <i>et al.</i> (2010a)	VEENEMA NS <i>et al.</i> (2011)	SPEICH <i>et al.</i> (2013)	TESIS DOCTORAL
CARACTERÍSTICAS MUESTRALES Tamaño y edad muestral	127 pacientes VIH (18 a 65 años)	3152 datos de individuos (0 a > 45 años)	526 niños (6 a 60 meses)	550 escolares (7 a 15 años)	674 escolares (6 a 18 años)
TÉCNICA UTILIZADA	Microscopía IF, PCR-RFLP	Registros del laboratorio	ELISA	R	VD, R, ZN
Especies parasitas	%	%	%	%	%
TOTAL PARASITADOS	-	57,1	-	-	94,9
Protozoos	-	20,5	-	74,7	94,5
<i>Entamoeba coli</i>	-	-	-	51,5	57,2
<i>Entamoeba hartmanni</i>	-	-	-	13,3	56,3
<i>Entamoeba complex*</i>	-	13,6	-	18,0	21,8
<i>Endolimax nana</i>	-	-	-	19,5	91,1
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	-	-	-	6,7	26,7
<i>Giardia intestinalis</i>	-	6,9	31	16,4	21,0
<i>Chilomastix mesnili</i>	-	-	-	8,2	2,9
<i>Enteromonas hominis</i>	-	-	-	-	0,3
<i>Cryptosporidium sp.</i>	17,3	-	-	-	0,6
<i>Blastocystis hominis</i>	-	-	-	28,0	89,9

Tabla 54.- Prevalencias parasitarias en relación a la parasitación total y a la parasitación por protozoos en Tanzania. R= Técnica de Ritchie; VD= visión directa y ZN= Ziehl-Neelsen; %= frecuencia de casos; **E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*.

En relación a los helmintos, se ha encontrado diferencias estadísticamente significativa entre sexos, siendo también el sexo femenino el más afectado (MAZIGO *et al.*, 2010a). Sin embargo, cuando se consideran las especies de helminto por separado, se ha observado en área rural que el sexo masculino ha sido el más afectado en cuanto a la infección por *A. lumbricoides*, mientras que en área periurbana no se observaron diferencias entre sexos (KNOPP *et al.*, 2010). En cambio, en otro estudio, realizado en la isla de Zanzíbar tampoco encuentra diferencias significativas entre sexos (KNOPP *et al.*, 2009).

También se ha observado en Tanzania que el sexo masculino tiene más riesgo de parasitación que el sexo femenino, en relación a la infección por los ancilostómidos (KNOPP *et al.*, 2009; KNOPP *et al.*, 2010), aunque se ha observado también la ausencia

de diferencia estadísticamente significativa entre sexos (ALBONICO *et al.*, 2003; MAZIGO *et al.*, 2010b).

En el presente estudio, como ya se ha relatado, no se observaron diferencias estadísticamente significativas. No obstante, una mayor prevalencia de infección se ha observado en el sexo femenino para la parasitación por protozoos en general y por *E. histolytica/ E. dispar/ E. moshkovskii*, así como también mayor prevalencia de infección en el sexo masculino para la parasitación por helmintos en general, por *A. lumbricoides* y por los ancilostómidos, coincidiendo con lo documentado en Tanzania. No obstante, en la República Democrática del Congo, el sexo masculino ha sido el más afectado por los helmintos en general y por *A. lumbricoides*.

En Uganda se ha afirmado que el sexo masculino es más afectado por *E. histolytica/ E. dispar/ E. moshkovskii* que el sexo femenino, y no se han encontrado diferencias significativas entre sexos y la parasitación por helmintos.

Las diferencias encontradas entre sexos y la parasitación intestinal en los países estudiados probablemente sean el resultado de factores comportamentales, inmunológicos y genéticos (KNOPP *et al.*, 2009).

D.2.) EN RELACIÓN A GRUPOS DE EDAD

En Tanzania se ha visto que la infección intestinal por protozoos en el grupo etario entre 5 y 14 años de edad es superior a la que presenta el grupo entre 0 y 4 años (MAZIGO *et al.*, 2010a).

En relación a los helmintos se ha observado que el pico de infección es superior en personas con más de 45 años de edad que en aquellas entre los 0 y 4 años de edad (MAZIGO *et al.*, 2010a), aunque hay estudios que no han encontrado diferencias significativas entre grupos de edad y los helmintos (KNOPP *et al.*, 2010).

REFERENCIA (AUTOR)	LWAMBO et al. (2000)	GUYAT et al. (2001)	MONTRESOR et al. (2001)	ALBONICO et al. (2003)	KNOPP et al. (2009)	KNOPP et al. (2010)	MAZIGO et al. (2010a)	MAZIGO et al. (2010b)	EOM et al. (2011)	SPEICH et al. (2012)	MWANJALI et al. (2013)	KINUNG'HI et al. (2013)	MUGONO et al. (2014)	SALIM et al. (2014)	SALIM et al. (2015)	TESIS DOCTORAL
CARACTERÍSTICAS MUESTRALES	6.801 niños (7 a 18 años)	466 niños (8 a 14 años)	517 niños (7 a 14 años)	904 niños tratados (7 a 18 años)	368 niños (7 a 20 años)	454 individuos (5 a 60 años)	3152 individuos (0 a > 45)	400 escolares (8 a 16 años)	1.057 individuos	701 niños (7 a 15 años)	820 individuos (15 a 60)	1.546 escolares (3 a 13 años)	774 escolares (4 a 15 años)	472 niños (2 meses a 9 años)	992 niños (2 meses a 9 años)	674 escolares (6 a 18 años)
Técnica coprológica utilizada	R	KK	KK	KK	KK, KA	KK, KA	RL	KK	KK, CG	KK	R, ELISA	KK	KK	KK, CG, B, FLOTAC	KK, CG, B, FLOTAC	VD, R, KK
Especies parasitas	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Helmintos	-	-	-	99,7	59,7	-	25,2	54,5	6,3	-	-	-	6,7	-	-	18,1
<i>Hymenolepis diminuta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-	0,1
<i>Hymenolepis nana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	0,3
<i>Taenia</i> sp.	-	-	-	-	-	-	0,6	-	0,5	-	1,1	-	-	-	-	0,3
<i>Enterobius vermicularis</i>	-	-	-	-	-	-	0,67	-	0,7	-	-	-	-	18,0	11,7	0,1
<i>Trichuris trichiura</i>	-	14,0	72,7	92,8	46,6	48,7	0,7	0	4,0	82,0	-	0,2	-	2,5	-	11,1
<i>Ascaris lumbricoides</i>	-	21,0	23	59,5	16,9	49,4	1,6	0	0,2	5,0	1,0	0	1,0	0,1	-	6,8
Ancylostomidae gen. sp.	37,0	61,0	78,2	95,4	21,6	31,1	25,2	38,5	-	7,0	14,1	15,8	5,7	9,1	6,1	0,3
<i>Strongyloides stercoralis</i>	-	-	-	-	10,2	10,3	5,6	-	-	-	-	-	-	6,9	4,2	0
<i>Schistosoma mansoni</i>	10,9	-	-	-	-	-	5,6	64,3	-	-	-	-	63,9	-	-	0

Tabla 55.- Prevalencias parasitarias en relación a la parasitación total y a la parasitación por helmintos en Tanzania. B= Baermann; CG=Cinta de Graham; KA=Koga Ágar; KK= Kato-Katz; R= Técnica de Ritchie; RL=Registros laborales; y VD= visión directa; %= frecuencia de casos; **E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*.

Al contrario de lo observado en el presente trabajo, en otros estudios ruandeses y en Uganda no se ha documentado en Tanzania un declino de la infección por *G. intestinalis* según aumenta la edad. Sin embargo, en cualquier caso serían necesarios más estudios en Tanzania para poder realmente afirmar algo así.

La infección por geohelminthos aumenta con la edad, ocurriendo el pico de infección entre los 8 y 15 años de edad (SALIM *et al.*, 2014; SALIM *et al.*, 2015). Esto coincide con lo observado en Uganda y en República Democrática del Congo, si bien no coincide con lo previamente analizado en Ruanda (STAUDACHER *et al.*, 2014). En la bibliografía consultada también se ha podido observar que según aumenta la edad hay más riesgo de infección por ancilostómidos (KNOPP *et al.*, 2010; MAZIGO *et al.*, 2010b; KINUNG'HI *et al.*, 2014; SALIM *et al.*, 2014; SALIM *et al.*, 2015) y por *E. vermicularis* (SALIM *et al.*, 2015), aunque se ha encontrado un estudio que afirma que no hay diferencias significativas entre los grupos de edad y la infección por ancilostómidos (GUYAT *et al.*, 2001). Además, también se ha observado que la prevalencia de *A. lumbricoides* y de *T. trichiura* aumenta en las edades más tempranas (KNOPP *et al.*, 2010). En el presente estudio, ha habido diferencia estadísticamente significativa entre grupos de edades, pero no respecto de las especies y grupos de parásitos que lo han sido en Tanzania. Sin embargo, el grupo etario entre los 6 y 10 años de edad ha sido el más parasitado por los protozoos y por los helmintos. Los ancilostómidos tienen mayor prevalencia en el grupo de edad más avanzado y *A. lumbricoides* tuvo mayor prevalencia en los escolares de menor edad, coincidiendo todo esto con lo descrito en Tanzania. En Ruanda se ha relatado que el grupo más afectado por helmintos es aquel entre los 7 y 12 años de edad (DUSHIMIMANA *et al.*, 2008) y en Uganda el grupo entre los 5 y 10 años de edad (SHAPIRO *et al.*, 2005).

D.3.) EN RELACIÓN AL GRADO ESCOLAR

Ninguno de los trabajos consultados de Tanzania analiza a la población objeto de estudio en relación al nivel escolar cursado.

4.2.2.- EN RELACIÓN AL MULTIPARASITISMO

Se analiza a continuación la bibliografía de cada país en relación al multiparasitismo, así como también se comparan estos datos con los resultados observados en el presente trabajo y en estudios previos realizados en Ruanda.

A) UGANDA

En relación al multiparasitismo se ha observado en Uganda una prevalencia total del poliparasitismo de un 52,7% (SHAPIRO *et al.*, 2005), aunque este dato se refiere únicamente a coinfecciones entre geohelminthos, por lo que probablemente, esta prevalencia de multiparasitismo sea bastante menos a la encontrada en el presente estudio (79,6%).

B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO

En la poca bibliografía que se ha encontrado de la República Democrática del Congo, apenas un estudio muestra información en relación al multiparasitismo intestinal. Este estudio realizado en 438 niños de 8 a 10 años de edad mediante la técnica de Kato-Katz, afirma que la coinfección por dos especies de helmintos ha sido de un 26,7%; mientras que la coinfección por tres especies de helmintos ha sido de 0,7%; y un total de coinfección entre helmintos del 27,4% (NUNDU *et al.*, 2014). En el presente estudio, en relación a los helmintos, se obtuvo multiparasitismo en 9,9% de los escolares, encontrándose apenas la parasitación por 2 especies de helmintos simultáneamente. Este porcentaje es bastante inferior al encontrado en la República Democrática del Congo, lo cual esto puede deberse a la baja prevalencia de helmintos encontrada en general en el presente trabajo, debido a mejores condiciones de calidad de vida de la población escolar del Colegio Nemba I. En la población ugandesa se ha encontrado un porcentaje de coinfección entre helmintos de un 52,7%, también superior a la del presente estudio y al encontrado en población congoleña. Es muy probable que sin esto pueda deberse a las altísimas prevalencias que los ancilostómidos presentan en Uganda.

C) BURUNDI

No se han encontrado datos referentes al multiparasitismo en Burundi.

D) TANZANIA

Considerando el multiparasitismo en Tanzania se ha reportado únicamente el multiparasitismo entre especies de helmintos, obteniendo una prevalencia del 34,8% para el monoparasitismo (KNOPP *et al.*, 2009); a la parasitación por dos especies de helmintos prevalencias del 38,3% (ALBONICO *et al.*, 2003); y del 15,5 (KNOPP *et al.*, 2009) del 54,9% (ALBONICO *et al.*, 2003), por tres especies del 8% (KNOPP *et al.*, 2009) y del 36,4% (KNOPP *et al.*, 2010); por cuatro especies del 1,4% (KNOPP *et al.*, 2009) y del 10,9% (KNOPP *et al.*, 2010); y por 5 especies de helmintos del 1,8% (*T. trichiura*, *A. lumbricoides*, *ancilostómidos*, *S. stercoralis* y *Schistosoma haematobium*)(KNOPP *et al.*, 2010). En cualquier caso, se observa que en Tanzania el poliparasitismo más frecuente es aquel ocasionado por tres especies de helminto.

Todo esto coincide con lo encontrado en el presente trabajo, pero no con lo reportado previamente en la República Democrática del Congo, dónde el parasitismo más frecuente era el ocasionado por dos especies parasitas (NUNDU *et al.*, 2014). Zonas geográficas diferentes, poblaciones de estudio con diferentes rangos de edades y sobre todo, diferentes métodos coprológicos empleados, además de diferentes helmintos prevalentes entre los países, pueden ser factores que expliquen estas diferencias.

No hay datos en relación al multiparasitismo y el sexo en Tanzania, pero sí se ha afirmado que el multiparasitismo es mayor en individuos de grupo etario más joven (KNOPP *et al.*, 2010), aunque más estudios son necesarios en Tanzania sobre este tema para comparar mejor los resultados.

4.2.3.- EN RELACIÓN A LAS ASOCIACIONES ENTRE ESPECIES PARASITAS

Se analiza, a continuación, la bibliografía de cada país en relación a las asociaciones entre las diferentes especies parásitas, así como también se comparan

Discusión

estos datos con los resultados observados en el presente trabajo y en estudios previos realizados en Ruanda.

A) UGANDA

En los trabajos realizados en Uganda, con anterioridad, no se muestran datos en relación a posibles asociaciones entre las diferentes especies parasitas.

B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO

No se han encontrado datos sobre la asociación entre especies parasitas en la bibliografía consultada.

C) BURUNDI

No se ha encontrado información en relación a la interacción entre las especies parasitas reportadas en Burundi.

D) TANZANIA

En Tanzania se ha observado que escolares con parasitación por *S. stercoralis* tienen mayor riesgo de infección por *T. trichiura*; y *E. vermicularis* no se ha asociado con ningún helminto (SALIM *et al.*, 2014); y que *A. lumbricoides* y los ancilostómidos se han asociado positiva y significativamente con la parasitación por *T. trichiura*.

En el presente estudio, debido a la baja incidencia de *E. vermicularis*, no fue posible asociarlo con las demás especies parásitas. Además, no ha habido asociación entre *A. lumbricoides* y los ancilostómidos con *T. trichiura*. Este estudio de Tanzania ha sido el único en presentar datos que tengan en cuenta este punto.

Es complicado evidenciar algo teniendo solamente en cuenta lo reportado en este trabajo de Tanzania y lo obtenido en el presente estudio, por lo que son necesarios

más estudios que aborden este punto de vista para comprender mejor las posibles relaciones que hay entre los parásitos.

4.2.4.- EN RELACIÓN A LAS INTENSIDADES DE PARASITACIÓN

Se analiza a continuación la bibliografía de cada país en relación a las intensidades de infección del por geohelminths, así como también se comparan estos datos con los resultados observados en el presente trabajo y en estudios previos realizados en Ruanda.

A) UGANDA

A pesar de que varios son los estudios realizados mediante la técnica de Kato-Katz, pocos son aquellos que reportan datos relacionados a las intensidades de infección en este país. De hecho, muchos se limitan a dar exclusivamente como resultado las prevalencias de parasitación.

Se reporta una media aritmética de 309,5 hgh para los ancilostómidos; de 95,5 hgh para *A. lumbricoides*; y de 3,3 hgh para *T. trichiura* (ZHANG *et al.*, 2007), frente a 0,3 hgh, 525,9 hgh y 25,5 hgh, respectivamente, encontradas en el presente estudio. Se observa en Uganda para los ancilostómidos una cantidad de hgh bastante mayor a la encontrada en el presente estudio. Es muy probable que esto ocurra debido a la baja presencia de estas especies parasitas en la población ruandesa.

En la bibliografía consultada sobre Uganda se revelan infecciones de intensidades bajas para los ancilostómidos, *T. trichiura* y *A. lumbricoides* (MUKAYA *et al.*, 2009; FRANCIS *et al.*, 2012). De manera más detallada se ha reportado en el país para los ancilostomidos infección leve en un 48,4% de la población estudiada; infección moderada en un 1,6%; e infección elevada en un 1,0%. En cambio para *A. lumbricoides* los porcentajes de intensidad de infección han sido 30,7%, 0,7% y 0,3%, respectivamente (ZHANG *et al.*, 2007). Se observa que las infecciones de intensidad leve son las más frecuentes en Uganda, así como también lo fueron en Ruanda tanto en el presente estudio, como en la bibliografía consultada.

B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO

No se han encontrado en los estudios consultados sobre este país datos sobre las intensidades de parasitación, por lo que no ha sido posible comparar a este país con Ruanda y con Uganda.

C) BURUNDI

No ha habido estudios que mostrasen resultados pertinentes a la intensidad de parasitación.

D) TANZANIA

Dado a que son bastantes los estudios realizados en Tanzania mediante la técnica de Kato-Katz se han encontrado datos relacionados con las intensidades de parasitación, los cuales han sido plasmados en la Tabla 56, en la cual se muestra los datos encontrados en la bibliografía consultada, además de los datos obtenidos en el presente estudio.

Se observa que las infecciones de intensidad leve son las más comunes, siendo las de intensidad moderada y elevada escasas, coincidiendo con lo observado en el presente trabajo, así como en otros trabajos realizados en Ruanda y en Uganda.

No ha habido diferencias estadísticamente significativas entre el sexo y las intensidades el parasitismo intestinal en Tanzania. No obstante, la intensidad de infección de los ancilostómidos ha sido diferente significativamente entre los grupos de edad, dónde niños de edades más avanzadas han tenido mayores cargas parasitarias que niños de menor edad (KINUNG'HI *et al.*, 2014), aunque otro estudio afirma no haber encontrado diferencias estadísticamente en relación a la edad (GUYAT *et al.*, 2001). No hay estudios realizados en Tanzania que relaten la relación entre la intensidad de parasitación intestinal y el grado escolar cursado.

REFERENCIA (AUTOR)	<i>T. trichiura</i>			<i>A. lumbricoides</i>			<i>Ancilostómidos</i>		
	% Leve	% Moderada	% Elevada	% Leve	% Moderada	% Elevada	% Leve	% Moderada	% Elevada
MONTRESOR <i>et al.</i> (2001)	87,3	12,7		97,0	3,0		94,7	5,3	
KNOPP <i>et al.</i> (2009)	99,4	0,6	0,0	91,9	8,1	0,0	100,0	0,0	0,0
KNOPP <i>et al.</i> (2010)	98,7	1,3	0,0	87,0	13,0	0,0	99,1	0,9	0,0
MAZIGO <i>et al.</i> (2010b)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	32,0	-	1,0
SPEICH <i>et al.</i> (2012)	94,0	4,3	1,7	La mayoría de las infecciones	-	-	La mayoría de las infecciones	-	-
KINUNG'HI <i>et al.</i> (2014)	-	-	-	-	-	-	100,0	0,0	0,0
MUGONO <i>et al.</i> (2014)	La mayoría de las infecciones		-	La mayoría de las infecciones		-	La mayoría de las infecciones		-
SALIM <i>et al.</i> (2014)	90,5	9,5	0,0	100,0	0,0	0,0	85,7	8,6	5,7
TESIS DOCTORAL	100	0,0	0,0	75,0	23,5	1,5	100,0	0,0	0,0

Tabla 56.- Grados de intensidad de infección para las tres especies de geohelminths encontradas en la bibliografía consultada de Tanzania. %= frecuencia de casos.

4.2.5.- EN RELACIÓN A LA EOSINOFILIA

Se analiza a continuación la bibliografía de cada país en relación a la eosinofilia y se comparan estos datos con los resultados observados en el presente trabajo y en estudios previos realizados en Ruanda.

A) UGANDA

No se han encontrado publicaciones que contengan datos relacionados con la eosinofilia en la población ugandesa.

B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO

No se han encontrado en este país datos sobre la eosinofilia.

C) BURUNDI

No se han encontrado datos sobre el estado de la eosinofilia en Burundi.

E) TANZANIA

Tanzania ha sido el único país analizado en el que se han encontrado datos referentes a la eosinofilia. En 472 niños, con edades comprendidas entre los 2 meses y 9 años, se ha observado eosinofilia en 38,7% de ellos. Además, en este mismo estudio se ha evidenciado que elevados valores de eosinófilos están relacionados de manera significativa y positiva con la infección por *T. trichiura*, por los ancilostómidos y por *S. stercoralis* (SALIM *et al.*, 2014). La prevalencia de la eosinofilia en Tanzania es algo superior a la encontrada en el presente trabajo (27%), lo cual puede deberse a las bajas prevalencias encontradas de ancilostómidos en Ruanda, siendo muy prevalentes en Tanzania.

En general, en todos los países analizados en la presente Tesis Doctoral los datos encontrados en relación al parasitismo intestinal y la eosinofilia, e incluso, en relación a la eosinofilia en general son muy escasos. Es sabido que la eosinofilia está fuertemente vinculada a la parasitación intestinal, especialmente aquella ocasionada por helmintos, por lo que valdría la pena que estudios futuros de parasitismo intestinal tomaran en cuenta la eosinofilia.

4.2.6.- EN RELACIÓN A LA ANEMIA

Se analiza, a continuación, la bibliografía de cada país en relación a la anemia y se comparan estos datos con los resultados observados en el presente trabajo y en estudios previos realizados en Ruanda.

A) UGANDA

Teniendo en cuenta el valor medio de hemoglobina, en Uganda se ha reportado con anterioridad el valor de 12 g/dL en un estudio longitudinal realizado con 1871

individuos con edades comprendidas entre los 6 y 14 años de edad (KABATEREINE *et al.*, 2007). Se observa que esta media es algo inferior a la obtenida en el presente trabajo (13,5 g/dL), y a la observada también en Ruanda en general. Serían necesarios más estudios en Uganda que reportasen este dato a fin de obtener un valor más válido.

En Uganda se ha evidenciado unas prevalencias de la anemia del 36,2% (KABATEREINE *et al.*, 2007) y del 68,9% (GREEN *et al.*, 2011), las cuales son superiores a las obtenidas en el presente estudio y también en comparación a otros estudios ruandeses. Esto puede deberse a diferencias entre ambos países, relacionadas con la alimentación, la edad de la población objeto de estudio y a factores socioeconómicos y genéticos. Además, cabe decir que Uganda es un país donde la malaria es altamente endémica, siendo uno de los países con mayor tasa de transmisión en el mundo. De los 18 países, que representan el 90% de las infecciones por *Plasmodium falciparum* en África Subsahariana Uganda ocupa el tercer lugar en el número total de infecciones después de la República Democrática del Congo y de Nigeria (U.B.O.S., 2015). Tampoco está de más considerar, conjuntamente, la alta prevalencia de la ancilostomiasis en el país, por lo que de esta manera, la malaria y la ancilostomiasis en Uganda pueden contribuir a que las prevalencias de anemia sean superiores que las encontradas en Ruanda.

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre anemia y sexo (ZHANG *et al.*, 2007; GREEN *et al.*, 2011; ANKARKLEV *et al.*, 2012) y se ha observado mayor prevalencia de la anemia en personas con edades comprendidas entre los 18 y 49 años de edad (ZHANG *et al.*, 2007), aunque otro estudio afirma que niños de edades más avanzadas tienen menos anemia que aquellos en edades más tempranas (GREEN *et al.*, 2011). En el presente estudio tampoco se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre anemia y sexo, y el grupo etario más afectado es el de los escolares más jóvenes. Además, se ha detectado también que en Ruanda las edades más tempranas son las más anémicas (véase apartado 4.1.1.6.). A fin de entender esta relación entre anemia y sexo y grupo etario, son necesarios más estudios.

Considerando asociaciones entre anemia y parasitismo intestinal, se ha observado que en Uganda que no ha habido asociación estadísticamente significativa entre anemia y la parasitación por los ancilostómidos, *T. trichiura* y *A. lumbricoides*

(GREEN *et al.*, 2011). No obstante, también se ha comentado un fuerte vínculo entre la anemia y la parasitación por los ancilostomidos, dónde el 75% de los pacientes parasitados por estos helmintos tenían anemia (ZHANG *et al.*, 2007). Es de suponer que, dadas las relativamente bajas prevalencias de *T. trichiura* y de *A. lumbricoides* en Uganda, no se hayan mostrado datos que relacionen a la anemia con estas parasitosis, lo cual coincide con el presente estudio debido a las bajas prevalencias de anemia en los escolares del Colegio Nemba I.

Solamente hay un estudio que relaciona la anemia con la intensidad de las infecciones intestinales, y en el cual se afirma que niños con parasitación moderada o elevada, ocasionada por ancilostómidos, han tenido valores de hemoglobina más bajos que niños no infectados (KABATEREINE *et al.*, 2007). Es complicado comparar los datos que relacionan la anemia y la parasitación intestinal en el presente estudio, y en Ruanda en general, con los datos evidenciados en Uganda. Esto se debe a que en Ruanda hay bajas prevalencias de anemia y a que en Uganda, hay bajas prevalencias de *T. trichiura* y de *A. lumbricoides*.

B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO

Se ha reportado en la República Democrática del Congo prevalencias para la anemia de un 67% (KABONGO *et al.*, 2012) y de un 41,6% (MATANGILA *et al.*, 2014). Estos valores son más elevadas que las encontradas en Ruanda, incluido el presente estudio. En comparación a lo reportado en Uganda, la prevalencia de la República Democrática del Congo difiere del 36,2% encontrado por KABATEREINE *et al.* (2007) pero se aproxima al 68,9% de GREEN *et al.* (2011). Aunque la prevalencia de los ancilostómidos es baja en los pocos estudios encontrados, cabe aludir a que en este país existe una gran prevalencia de la malaria, al igual que Uganda, estimándose que un 97% de su población viva en zonas de transmisión estable, y que tenga el 11% de todos los casos de *P. falciparum* de África Subsahariana, siendo esta enfermedad la responsable por la mortalidad del 40% de la población infantil menor de 5 años (PMI, 2015).

En relación a la anemia y al sexo no se han reportado diferencias estadísticamente significativas (MATANGILA *et al.*, 2014), y en relación a la edad se ha

observado que niños con edad de 12 años tenían más riesgo de padecer anemia que individuos de edades superiores (KABONGO *et al.*, 2012). Sin embargo, en otro estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la presencia de anemia y las edades (MATANGILA *et al.*, 2014). Conforme lo descrito en los apartados anteriores, en Uganda no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sexo y anemia, al igual que en el presente estudio. Sin embargo otro estudio realizado en Ruanda afirma que el sexo masculino es más anémico significativamente (MUFASONI *et al.*, 2009). En relación a la edad, hay bastantes divergencias entre lo relatado en Ruanda y en Uganda, y son necesarios más estudios en los países a fin de entender mejor el mecanismo entre la edad y el sexo con la anemia.

En cuanto al parasitismo intestinal y la anemia, un único estudio afirma que la concentración de hemoglobina es inferior en escolares que están infectados por geohelminthos (MATANGILA *et al.*, 2014). En relación a los geohelminthos, en Ruanda se encontró asociación positiva y significativa con la anemia (STAUDACHER *et al.*, 2014), aunque en el presente estudio no se encontró ninguna asociación. En Uganda, se encontró asociación positiva significativa entre la anemia y la infección por los ancilostomídeos (ZHANG *et al.*, 2007). Ningún estudio de los consultados de la República Democrática del Congo muestra datos en relación a las intensidades de parasitación y la anemia, por lo que no es posible comparar esta asociación con lo ya observado en Uganda y en Ruanda.

C) BURUNDI

En relación a la anemia se ha encontrado una prevalencia del 47% en niños con edad inferior a los 5 años (W.H.O., 2011) y también de un 6% (I.S.T.E.E.B.U., 2012). Se observa que estas prevalencias distan bastante entre sí, siendo que la primera se asemeja relativamente a la encontrada en Uganda de 36,3% (KABATEREINE *et al.*, 2007) y a las encontradas en la República Democrática del Congo de 41,6% (MATANGILA *et al.*, 2014). En cambio, la segunda prevalencia se asemeja más a las bajas prevalencias observadas en Ruanda. A pesar de ello, se estima que la prevalencia de anemia sea alta en población infantil burundesa, debido a factores alimentares y también debido a la

Discusión

alta incidencia de la malaria siendo ésta de un 22% en niños menores de 5 años (I.S.T.E.E.B.U., 2012). En mujeres no embarazadas, con edad entre los 15 y 49 años, se ha observado que un 20% de ellas eran anémicas (W.H.O., 2011).

No se ha reportado relación entre la anemia, el sexo, la edad, el grado escolar, las prevalencias de parasitismo y las intensidades de parasitación en Burundi. Más estudios son necesarios en este país a fin de poder hacer mejores comparaciones entre países.

D) TANZANIA

En Tanzania se ha encontrado unas prevalencias de anemia de 31,2% (LWAMBO *et al.*, 2000), del 54% (GUYAT *et al.*, 2000), del 34,4%, (KINUNG'HI *et al.*, 2014), del 45,7% (SALIM *et al.*, 2014) y del 64,7% en población periurbana y del 50,9% en población rural (KNOPP *et al.*, 2010). Teniendo en cuenta estos datos, se observa que la anemia es un grave problema de salud en Tanzania (KNOPP *et al.*, 2010).

Estas prevalencias son superiores a la encontrada en el presente estudio (3,9%), y de modo general es similar a las prevalencias observadas en Uganda, República Democrática del Congo y Tanzania. Los países que rodean Ruanda tienen más anemia, lo cual puede deberse, desde un punto de vista general, a las altas incidencias que hay en estos países de la malaria y de la ancilostomiasis. En este sentido, cabe comentar que la malaria está poco presente en la zona analizada, debido a la altura y más presente en el este de Ruanda; y la ancilostomiasis es muy poco frecuente en el país debido a las medidas puestas en marcha por el gobierno ruandés.

En relación a la anemia y el sexo, un estudio realizado en Tanzania con 6.801 niños, de edades comprendidas entre los 7 y 18 años, no encontró diferencia estadísticamente significativa en la prevalencia de la anemia según el sexo, aunque se observó al sexo masculino ligeramente más anémico que el femenino (32,0% vs. 30,5%) (LWAMBO *et al.*, 2000). En el presente estudio no ha habido diferencias estadísticamente significativas entre sexos y, además, se ha observado al sexo femenino ligeramente más parasitado que el sexo masculino. No obstante en Ruanda se ha relatado que el sexo masculino ha sido significativamente más anémico que el femenino

(MUPFASONI *et al.* 2009). También se observa, además, que los niños son más anémicos que las niñas en las edades más tempranas, observándose, sin embargo, que la anemia se vuelve ligeramente más frecuente en el sexo femenino en la adolescencia (LWAMBO *et al.*, 2000). Tanto en Uganda, como en la República Democrática del Congo, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas (ZHANG *et al.*, 2007; GREEN *et al.*, 2011; ANKARKLEV *et al.*, 2012; MATANGILA *et al.*, 2014), mientras que en Burundi, no hubo datos analizados en relación a este tema.

Teniendo en cuenta la edad, se ha observado que la anemia, en niños con edades entre los 7 y 18 años, es más frecuente en los de edad más temprana (LWAMBO *et al.*, 2000; GUYAT *et al.*, 2001). Sin embargo, otro estudio afirma que el pico de la anemia se ha encontrado entre los 12 y los 14 años de edad (KNOPP *et al.*, 2010). Coincidiendo con los dos primeros estudios tanzanos, el presente trabajo muestra también un descenso de la prevalencia de la anemia según aumenta la edad, coincidiendo con lo también ya descrito en Ruanda (MUPFASONI *et al.* 2009; N.I.S.R., 2015), en Uganda (GREEN *et al.*, 2011) y en República Democrática del Congo (KABONGO *et al.*, 2012).

En relación al parasitismo intestinal, no se ha encontrado información en el país sobre la asociación de la anemia con los protozoos intestinales. En relación a los helmintos, se ha visto que los ancilostómidos son un factor predictor de la anemia en Tanzania (LWAMBO *et al.*, 2000; GUYAT *et al.*, 2001), siendo que fueron los responsables por un 6% de los casos de anemia en un estudio (GUYAT *et al.*, 2001). No obstante, otro estudio afirma que niños sin parasitación intestinal han presentado mayores valores medios de hemoglobina (KINUNG'HI *et al.*, 2014). Infecciones ocasionadas por *A. lumbricoides* y *T. trichiura* no se han relacionado con la anemia en Tanzania. En el presente estudio no hubo asociación entre parasitismo intestinal y anemia, probablemente debido a las bajas prevalencias de anemia, aunque en Ruanda y considerando apenas los datos de helmintos, se ha reportado asociación con la parasitación por geohelmintos (STAUDACHER *et al.* 2014), así como también la hubo en la República Democrática del Congo (MATANGILA *et al.*, 2014). Uganda, coincide con Tanzania en el hecho de que la relación positiva entre la anemia y la infección por los ancilostómidos (ZHANG *et al.*, 2007) y su ausencia en relación con *A. lumbricoides* y *T. trichiura* (GREEN *et al.*, 2011).

Considerando las intensidades de infección en Tanzania, se ha observado que la anemia se ha asociado significativamente con la intensidad de infección de los ancilostómidos. En el presente estudio, debido a la baja prevalencia de la anemia no pudieron obtenerse datos de asociación entre anemia e intensidad de infección, mientras que en Ruanda se ha afirmado con anterioridad que un 3,8% de los niños parasitados por ancilostómidos son anémicos (MUPFASONI *et al.*, 2009). En Uganda, niños con parasitación moderada o elevada ocasionada por ancilostómidos han tenido valores de hemoglobina más bajos que en niños no infectados (KABATEREINE *et al.*, 2007), mientras que República Democrática del Congo y Burundi no han mostrado datos referentes a este tema. Es complicado comparar los datos que relacionan la anemia y la parasitación intestinal debido a la baja prevalencia de la anemia (tanto en el presente estudio, como en Ruanda), además de los pocos estudios que hay a modo general, en todos los países que se han analizado. Es sabido que la anemia está fuertemente vinculada con la parasitación intestinal, especialmente de helmintos intestinales, agravándose según la intensidad en que estos ocurren, por lo que es importante que se hagan futuros estudios en la zona sobre esta relación.

4.2.7.- EN RELACIÓN AL ESTADO NUTRICIONAL

Se analiza a continuación la bibliografía de cada país en relación a los diferentes estados de desnutrición y se comparan estos datos con los resultados observados en el presente trabajo y en estudios previos realizados en Ruanda.

A) UGANDA

En Uganda, el tipo de desnutrición más frecuente es también el desmedro (FRANCIS *et al.*, 2012; U.B.O.S., 2012). Solamente uno de los estudios consultados tuvo el bajo peso, como la forma de desnutrición más prevalente (ACHAM *et al.*, 2012). Cabe destacar, además, que aunque el desmedro haya sido en general la forma de desnutrición más prevalente, esta prevalencia ha sido en realidad más baja que la observada en la presente Tesis Doctoral y también en la mayoría de los datos reportados previamente en Ruanda (véase apartado 4.1.1.7.). El desmedro se ha evidenciado en

Uganda en un 12% en niños de edad escolar entre los 9 y 12 años de edad (ACHAM *et al.*, 2012); en un 22,5% en escolares entre los 6 y los 14 años de edad (FRANCIS *et al.*, 2012); y en un 33% en niños con edad inferior a los 5 años (U.B.O.S., 2012).

En relación al bajo peso, se ha obtenido prevalencias en el país de un 5% (U.B.O.S., 2012) y de un 13% (ACHAM *et al.*, 2012). Estos datos se aproximan relativamente a los observados en Ruanda.

Considerando la delgadez, un estudio muestra la prevalencia de este tipo de desnutrición siendo su prevalencia de un 9% (ACHAM *et al.*, 2012), mientras que otro estudio muestra una prevalencia del 5,3% (FRANCIS *et al.*, 2012). Se trata de una prevalencia bastante baja, así como la encontrada en el presente trabajo, lo que se aproxima bastante a lo reportado en Ruanda por MUPFASONI *et al.* (2009).

Además, el sexo masculino ha resultado más afectado nutricionalmente, presentando mayor bajo peso (ACHAM *et al.*, 2012; FRANCIS *et al.*, 2012) y mayor desmedro y delgadez que el sexo femenino (ACHAM *et al.*, 2012; U.B.O.S., 2012).

En relación a la desnutrición y los grupos de edad, el desmedro ha sido superior en individuos entre los 10 y los 14 años, y se ha evidenciado que su prevalencia aumenta con la edad (FRANCIS *et al.*, 2012). A pesar de ello, el bajo peso ha sido más encontrado en edades más tempranas (U.B.O.S., 2012). En el presente trabajo, el desmedro afecta mayoritariamente a los escolares de edad más avanzada, coincidiendo con lo descrito en Uganda y en otros estudios ruandeses (MUPFASONI *et al.* 2008; N.I.S.R., 2010; HEIMER *et al.*, 2015).

Considerando el parasitismo intestinal y la desnutrición, solamente un estudio relata que un 26,6% de las incidencias de desmedro y un 46% de las incidencias de delgadez fueron atribuidas a las infecciones por helmintos (FRANCIS *et al.*, 2012). En Ruanda ya son escasos los estudios que relacionan la desnutrición con el parasitismo intestinal, pero en Uganda lo son todavía más escasos. Es importante que futuramente esta asociación sea más estudiada en ambos países

Los resultados relativos al estado de desnutrición que se han expuesto en Uganda muestran cierta semejanza con lo encontrado en Ruanda. El estado nutricional de un individuo es algo multifactorial por lo que posiblemente las diferencias entre

ambos países, principalmente en relación a las prevalencias del desmedro, se deban a una serie de factores que se solapan como es el estado de salud de la población objeto de estudio, hábitos alimentares, factores socioeconómicos, entre otros.

B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO

En la República Democrática del Congo se ha constatado que la malnutrición es significativamente superior en áreas rurales que en áreas urbanas (KANDALA *et al.*, 2011).

En relación al desmedro se ha obtenido porcentajes de un 43,9% (KANDALA *et al.*, 2011); de un 53,8% (KABONGO *et al.*, 2012); de un 0,16% (MATANGILA *et al.*, 2014); y de un 43% (M.P.S.M.R.M., 2014). A excepción de lo reportado por MATANGILA *et al.* (2014), todos los demás estudios realizados en la República Democrática del Congo muestran elevadas prevalencias del desmedro, siendo la forma de desnutrición más frecuente. Estas elevadas prevalencias coinciden con lo expuesto anteriormente en Ruanda (véase apartado 4.1.1.7.), siendo estas prevalencias superiores a las encontradas en Uganda (véase apartado 4.1.2.1.7.).

Considerando la delgadez en la República Democrática del Congo, se ha obtenido una prevalencia del 0,65% (MATANGILA *et al.*, 2014), por lo que se puede afirmar que es el tipo de desnutrición menos frecuente en el país, coincidiendo con Ruanda y con Uganda.

En relación al bajo peso se ha encontrado una prevalencia del 23% en niños de edad inferior a 5 años (M.P.S.M.R.M., 2014). Esta prevalencia es bastante superior a lo observado en Uganda y se aproxima algunos de los estudios de Ruanda (IGNATIUS *et al.*, 2012; STAUDACHER *et al.*, 2014), aunque debe considerarse las edades de las poblaciones objeto de estudio.

Cuando uno busca las posibles causas de la desnutrición en este país, cabe aludir a las frecuentes enfermedades, al bajo consumo de alimentos, al poco acceso a la comida y a la poca calidad de vida, y todo ello en un conflicto armado de no hace mucho tiempo.

En relación al sexo, solamente se ha encontrado datos asociados con el desmedro, dónde se ha observado que el sexo masculino es más afectado que el sexo femenino y dónde se ha observado que el desmedro afecta más a los grupos de edades superiores (KANDALA *et al.*, 2011; KABONGO *et al.*, 2012). Esto coincide con lo reportado previamente en Uganda, en Ruanda en general y en la presente Tesis Doctoral.

No se ha encontrado en la República Democrática del Congo estudios que relacionen la intensidad de parasitación de helmintos con los tipos de desnutrición, por lo que no ha sido posible realizar una comparación con lo relatado en Uganda y en Ruanda.

C) BURUNDI

La escasez de alimentos y la pobreza hacen que la desnutrición sea un gran problema en Burundi (ROSSI *et al.*, 2007). Se ha estimado prevalencias del desmedro del 58% (I.S.T.E.E.B.U., 2010); del 50% (WFP, 2016); y entre los años de 1987 y 2000, unas prevalencias del 48% y 57% (ROSSI *et al.*, 2007). Estas prevalencias para el desmedro se aproximan a las encontradas en la República Democrática del Congo, y a algunos estudios en Ruanda, aunque son superiores a las encontradas en el presente trabajo.

En cuanto al bajo peso, se ha descrito una prevalencia nacional del 29% (I.S.T.E.E.B.U., 2010), lo cual se encuentra dentro del rango de prevalencias que se han encontrado en Ruanda, aunque es bastante más superior al presente estudio. Las diferencias entre lo encontrado en Burundi y lo encontrado en la presente Tesis Doctoral, puede deberse a que la población de Burundi vive en situaciones más extremas que la población escolar de Nemba.

No se han encontrado datos referentes a la delgadez en Burundi, ni tampoco datos que relacionasen el estado de desnutrición de la población de Burundi con el sexo, el grupo de edad, el parasitismo intestinal o las intensidades de parasitación.

D) TANZANIA

Considerando el estado de la desnutrición en Tanzania, al desmedro se le ha reportado una prevalencia del 42,5% (LWAMBO *et al.*, 2000); del 66,6% (GUYAT *et al.*, 2001); y del 18,7% (SALIM *et al.*, 2014). En relación al bajo peso, se ha evidenciado prevalencias del 43,0% (LWAMBO *et al.*, 2000), mientras que para la delgadez de un 3,2% (SALIM *et al.*, 2014).

Tanzania ha sido el país que ha documentado la mayor prevalencia de desmedro y de bajo peso, mientras que Burundi ha sido el país que ha documentado la prevalencia de delgadez más alta. Generalizando, los datos de desmedro reportados en Tanzania son similares a los observados en Burundi, mientras que en relación al bajo peso Tanzania ha sido el único con prevalencias de bajo peso tan elevadas (43% frente a un rango de entre 8,5% a 23% en todos los demás países).

El bajo peso ha sido poco frecuente en el presente trabajo, así como también lo ha sido en Ruanda en general, en la República Democrática del Congo y en Tanzania. Sin embargo, Burundi ha presentado una gran prevalencia de este tipo de desnutrición. Estas diferencias que hay entre los países, se deben sin duda a los diferentes contextos socioeconómicos y políticos de cada país, además del acceso de la población a los alimentos y las prevalencias de enfermedades que afectan el estado nutricional, entre otros factores. Sin embargo, todos estos datos muestran que la desnutrición es un grave problema en todos los países analizados, siendo en cada uno de ellos la desnutrición más frecuente el desmedro.

En relación al estado nutricional y el sexo, en Tanzania se ha reportado que los niños son significativamente más propicios que las niñas a ser desmedrados y a tener bajo peso (LWAMBO *et al.*, 2000). En relación a lo observado en Tanzania, se observa que coincide con lo observado en el presente estudio y en otros estudios ruandeses (DUSHIMIMANA *et al.*, 2008; MUPFASONI *et al.*, 2009; N.I.S.R., 2010; N.I.S.R., 2015), ugandeses (ACHAM *et al.*, 2012; U.B.O.S., 2012), y en la República Democrática del Congo (KANDALA *et al.*, 2011; KABONGO *et al.*, 2012). No ha habido información sobre este punto en Burundi. En relación al bajo peso el presente estudio no encuentra diferencias estadísticamente significativas entre sexos, aunque otro estudio realizado

en Ruanda (N.I.S.R., 2010) coincide con lo reportado en Tanzania, así como también ocurre con estudios ugandeses (ACHAM *et al.*, 2012; FRANCIS *et al.*, 2012). No se han obtenido datos que relacionasen estas dos variables en la República Democrática del Congo ni en Burundi.

En general, se observa que el sexo masculino es el más afectado nutricionalmente. Esto puede deberse a diferencias en el papel desempeñado entre sexos en las comunidades, además de las diferentes demandas nutricionales y energéticas que hay entre niños y niñas que se encuentran en crecimiento, demandas estas que es posible que puede que no sean atendidas debido a enfermedades y falta de alimentos, además de otros problemas que pueden encontrarse en el contexto de los países estudiados.

Considerando la edad y la desnutrición en Tanzania se ha observado que los Puntajes-Z de todos los tipos de desnutrición disminuyen con la edad, especialmente a partir del grupo de edad ente los 7 y 12 años (LWAMBO *et al.*, 2000). En relación al desmedro, esto no coincide con el presente estudio ni con otro estudio realizado en Ruanda (MUPFASONI *et al.* 2009). Tampoco coincide con lo reportado en Uganda, donde se ha evidenciado que el desmedro aumenta con la edad (U.B.O.S., 2012), ni con lo observado en la República Democrática del Congo (KANDALA *et al.*, 2011; KABONGO *et al.*, 2012) De esta forma, Tanzania es el único país en que se observa que el desmedro es mayor en niños de edad más temprana. En relación al bajo peso, y la disminución encontrada en las edades más tempranas en Tanzania, se observa en el presente estudio que no se puede afirmar tal hecho, ya que el subgrupo etario entre los 6 y 10 años de edad no se ha subdividido a fin de ver las prevalencias del bajo peso en los escolares de menor edad. Otros estudios realizados en Ruanda, Burundi y en la República Democrática del Congo no dan información acerca del bajo peso y la edad, aunque en Uganda el bajo peso también ha tenido mayores prevalencias en las edades más tempranas (U.B.O.S., 2012).

Ninguno de los estudios consultados para todos los países ha mostrado relación entre la delgadez y la edad. En el presente trabajo no ha habido asociación significativa, aunque la edad más afectada era aquella comprendida entre los 14 y 18 años de edad.

En relación al parasitismo intestinal y la desnutrición en Tanzania se ha reportado que no ha habido relación entre la parasitación por geohelminetos y los índices antropométricos (LWAMBO *et al.*, 2000; SALIM *et al.*, 2014). Comparando tal hecho con lo observado en los demás países analizados, se observa que tal afirmación no coincide con lo encontrado en Ruanda (STAUDACHER *et al.*, 2014), ni en Uganda (FRANCIS *et al.*, 2012), donde los geohelminetos se han relacionado positivamente con el desmedro. Tampoco coincide con lo encontrado en el presente estudio, donde la presencia de helmintos en general se ha asociado a este índice antropométrico. No se ha encontrado información referente a este tema en Burundi, ni en la República Democrática del Congo.

En la bibliografía consultada de Tanzania, no se ha encontrado información relacionada a las intensidades de parasitación y los diferentes tipos de desnutrición, ni tampoco la ha habido en Burundi ni en la República Democrática del Congo. En el presente trabajo, no hubo asociación significativa para las infecciones simples de distintas intensidades. Sin embargo, considerando las coinfecciones y sus diferentes intensidades, se ha obtenido asociación positiva y significativa con el desmedro en la parasitación simultánea por *T. trichiura* y *A. lumbricoides*, cuando la primera especie se encontraba en intensidad leve y la segunda en intensidad leve, moderada o elevada. Teniendo en cuenta, esto, y las asociaciones encontradas por MUPFASONI *et al.* (2009) entre intensidades de parasitación y desnutrición, se observa que es importante que futuros estudios tengan en cuenta este tema, a fin de definir mejor estas posibles relaciones.

De un punto de vista global, cabe comentar que ha habido divergencias en cuanto la metodología nutricional empleada en la bibliografía consultada de todos los países. No todos los estudios utilizan los mismos índices antropométricos y no todos utilizan la misma población de referencia (algunos han utilizado como referencia las curvas del N.C.H.S., en lugar de las curvas de la O.M.S.), por lo que las prevalencias reales pueden verse afectadas por esto. También es importante añadir que cada estudio utiliza además población de diferentes edades, estando la mayoría de los estudios especialmente enfocados en población con edad inferior a los 5 años. Por tal razón y

conforme a lo expuesto anteriormente, es importante que en futuras investigaciones se tenga en cuenta a la población que se encuentra en edad escolar.

4.2.8.- EN RELACIÓN A LOS FACTORES EXTRÍNSECOS

Se analiza a continuación la bibliografía de cada país en relación a los diferentes factores de riesgo para la parasitación intestinal, y se compara también estos datos con los resultados observados en el presente trabajo y en estudios previos realizados en Ruanda.

A) UGANDA

En relación a los factores extrínsecos y el parasitismo intestinal, se ha encontrado una publicación que muestra resultados en relación a este punto en Uganda. En ella se muestra que en 2.507 mujeres embarazadas, la educación ha sido un factor protector para la parasitación por *A. lumbricoides*, mientras que la no utilización de agua proveniente del grifo ha sido un factor de riesgo para la parasitación de esta misma especie de helminto (WOODBURN *et al.*, 2009).

B) REPÚBLICA DEMOCRÁTICA DEL CONGO

De toda la bibliografía consultada en este país, no se han encontrado datos referentes a la relación entre parasitismo intestinal y posibles factores socioeconómicos que puedan favorecer esta infección.

C) BURUNDI

En la bibliografía consultada de Burundi no se ha encontrado información referente a la relación entre el parasitismo intestinal y condiciones socioeconómicas que sean factor de riesgo para esta infección.

D) TANZANIA

En relación a los factores extrínsecos, sólo hay dos estudios que aportan información referente a factores de riesgo y al parasitismo intestinal en Tanzania.

Uno de ellos, realizado en 454 individuos con edades comprendidas entre los 5 y 60 años ha observado que en zona rural la gente que consumía vegetales crudos y ensaladas tenía más riesgo de infectarse con *A. lumbricoides* (MUGONO *et al.*, 2014). En el presente trabajo no se ha encontrado relación significativa en la gente que consumía vegetales cocidos y la infección por ese parásito, y los porcentajes de infección, además, fueron menores en escolares que consumían vegetales cocidos, en comparación a aquellos que comían los vegetales crudos.

En población periurbana tanzana no se observó ningún factor de riesgo para *A. lumbricoides* (KNOPP *et al.*, 2010), mientras que en el presente estudio, no tener figura paternal en la familia, padre laborando en el sector secundario, la presencia de suelo de tierra en la vivienda, la presencia de animales y el no hervir el agua de consumo, han sido factores de riesgo para la infección por este helminto.

También en población periurbana se observó en Tanzania que el lavado de manos, después de ir al baño, es factor protector contra la infección por *T. trichiura* (KNOPP *et al.*, 2010). Teniendo en cuenta esta especie parasita, esto no se ha observado en el presente trabajo, aunque el lavado de manos después de ir al baño ha sido factor de protección contra la infección por cualquier especie patógena, por cualquier protozoo patógeno y por *G. intestinalis*. Además, cabe señalar que el lavado de manos, después de ir al baño con jabón, es factor protector contra la parasitación por protozoos en general y por *E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*. El otro estudio sobre Tanzania afirma que debido a la baja prevalencia de geohelminthos, no se ha podido analizar posibles factores de riesgo (MUGONO *et al.*, 2014).

Aunque los estudios sean escasos, Ruanda, Uganda y Tanzania son los únicos que muestran datos en relación a factores de riesgo. Teniendo en cuenta lo reportado en el presente estudio, en otros estudios ruandeses, ugandeses y en Tanzania, queda claro que es importante que futuramente más estudios intenten observar mejor los mecanismos de factores que favorecen el parasitismo intestinal, a fin de entenderlos

más a fondo, para que posteriormente medidas de control y prevención sean aplicadas de manera más directa.

4.2.9.- EN RELACIÓN AL ANÁLISIS MOLECULAR

En ninguno de los países vecinos de Ruanda han constado estudios relacionados con la identificación molecular de *E. histolytica* y *E. dispar*. Dado que en el presente estudio la de mayor prevalencia ha sido *E. histolytica* sería oportuno que más estudios se realizasen sobre el tema en Ruanda y sus países vecinos.

CONCLUSIONES/ CONCLUSÕES

Los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral, como respuesta a los objetivos marcados que pretendían contribuir al conocimiento de las parasitosis intestinales en los escolares del Colegio Nemba I, permiten extraer las siguientes conclusiones:

- la población escolar del Colegio Nemba I muestra un espectro enteroparasitario diverso, con un amplio espectro de especies protozoarias y un menor espectro de helmintos, representado básicamente por geohelmintos, con ausencia total de trematodos y una reducida presencia de las cestodiasis;
- el multiparasitismo se ha manifestado en alto porcentaje y en grado diverso de hasta 9 especies parásitas diferentes al mismo tiempo, encontrándose asociación de parasitación únicamente entre especies de protozoos;
- la eosinofilia, el desmedro y el bajo peso están relacionados con el parasitismo intestinal. Los geohelmintos más prevalentes, aunque escasos, comparten ruta de infección aumentando la probabilidad de parasitación simultánea y conllevando al riesgo de desmedro en la población estudiada, incluso cuando estas coinfecciones son de intensidad leve; por lo que las asociaciones encontradas demuestran la necesidad de control de las enteroparasitosis en beneficio del estado nutricional;
- en términos de mejoramiento de las condiciones de vida de los escolares de Nemba, y de la población ruandesa en general, se considera fundamental potenciar en la sostenibilidad medioambiental, principalmente en lo que se refiere a mejorías de viviendas (mejoramiento de los suelos dentro de las viviendas y adecuado sistema de eliminación de excretas) y a la provisión de agua en condiciones de potabilidad; ya que estos factores actúan como factores de riesgo para el parasitismo intestinal;
- es importante la educación e información a la población en todo lo referente a los cuidados con el agua antes de su consumo, además del mantenimiento de adecuadas medidas de higiene personal;

Conclusiones/ Conclusões

- las marcadas diferencias entre los grupos parasitarios (protozoos vs. helmintos) evidencian el papel positivo sanitario que el gobierno ruandés ejerce con las campañas infantiles de desparasitación helmíntica.

Os resultados obtidos na presente Tese Doutoral, como resposta aos objetivos marcados que pretendiam contribuir ao conhecimento das parasitoses intestinais nos escolares do Colégio Nemba I, permitem chegar às seguintes conclusões:

- a população escolar do Colégio Nemba I, mostra um espectro enteroparasitário diverso, com um amplo espectro de espécies protozoárias e um menor espectro de helmintos, representado praticamente pelos geohelmintos, com ausência total de tremátodos e com uma reduzida presença de cestodos;
- o multiparasitismo manifestou-se em alta porcentagem e em um diverso grau de até 9 espécies parasitas diferentes ao mesmo tempo, existindo associação de parasitação unicamente estre espécies de protozoários;
- a eosinofilia, a baixa estatura e o baixo peso estão relacionados com o parasitismo intestinal. Os geohelmintos mais prevalentes, mesmo que escassos, compartilham rota de infecção aumentando a probabilidade de parasitação simultânea e levando ao risco de baixa estatura na população estudada, inclusive quando estas coinfeções são de intensidade leve; pelo que as associações encontradas mostram a necessidade de controle das enteroparasitoses como benefício do estado nutricional;
- em relação ao melhoramento das condições de vida dos escolares de Nemba, e da população ruandesa no geral, considera-se fundamental potenciar a sustentabilidade meio ambiental, principalmente no que se refere à melhoria das vivendas (melhoramento dos solos dentro das vivendas e sistema adequado de eliminação de excretas) e provisão de água potável; dado a que estes fatores atuam como fatores de risco para o parasitismo intestinal;
- é importante a educação e informação à população em tudo o relacionado com os cuidados a ter com a água antes do seu consumo, além da manutenção de adequadas medidas de higiene pessoal.

Conclusiones/ Conclusões

- as marcadas diferenças entre os grupos parasitários (protozoários vs. helmintos) evidenciam o papel positivo sanitário que o governo ruandês exerce com as campanhas infantis de desparasitação helmíntica.

BIBLIOGRAFÍA

A

- ACHAM (H.), KIKAFUNDA (J.K.), TYLLESKAR (T.) & MALDE (M.K.), 2012.** Nutritional and health status primary schoolchildren in rural Uganda. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 12: 5862-5880.
- ADAMU (H.), ENDESHAW (T.), TEKA (T.), KIFLE (A.) & PETROS (B.), 2006.** The prevalence of intestinal parasites in paediatric diarrhoeal and non-diarrhoeal patients in Addis Ababa hospitals, with special emphasis on opportunistic parasitic infections and with insight into the demographic and socio-economic factors. *Ethiopian Journal of Health Development*, 20: 39-46.
- ALBONICO (M.), BICKLE (Q.), RAMSAM (M.), MONTRESOR (A.), SAVIOLI (L.) & TAYLOR (M.), 2003.** Efficacy of mebendazole and levamisole alone or in combination against intestinal nematode infections after repeated targeted mebendazole treatment in Zanzibar. *Bulletin of the World Health Organization*, 81: 343-352.
- ALBONICO (M.), ALLEN (H.), CHITSULO (L.), ENGELS (D.), GABRIELLI (A.F.) & SAVIOLI (L.), 2008.** Controlling soil-transmitted helminthiasis in pre-school-age children through preventive chemotherapy. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2: e126.
- ALELIGN (T.), DEGARAEGE (A.) & ERKO (B.), 2015.** Soil-Transmitted Helminth Infections and Associated Risk Factors among Schoolchildren in Durbete Town, Northwestern Ethiopia. *Journal of Parasitology Research*, 2015: 1-4.
- ALUM (A.), RUBINO (J.R.) & IJAZ (M.K.), 2010.** The global war against intestinal parasites-should we use a holistic approach? *International Journal of Infectious Diseases*, 14: e732-e738.
- ANANE (S.), 2006.** Les étiologies parasitaires d'une hyperéosinophilie sanguine. *Annales de Biologie Clinique*, 64: 219-229.
- ANKARKLEV (J.), HESTVIK (E.), LEBBAD (M.), LINDH (J.), KADDU-MULINDWA (D.H.), ANERSSON (J.O.), TYLLESKÄR (T.), TUMWINE (J.K.) & SVÄRD (S.G.), 2012.** Common coinfections of *Giardia intestinalis* and *Helicobacter pylori* in non-symptomatic Ugandan children. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6: e1780.
- ASH (L.R.) & ORIHIL (T.C.), 1987.** Parasites: a guide to laboratory procedures and identification. *American Society of Clinical Pathologists, Chicago*, 328: 15-66.

B

- BENSON (T.), 2008.** Improving nutrition as a development priority: addressing undernutrition in national policy processes in sub-Saharan Africa. *International Food Policy Research Institute, Washington DC*.
- BEST (C.), NEUFINGERL (N.), VAN GEEL (L.), VAN DEN BRIEL (T.) & OSENDARP (S.), 2010.** The nutritional status of school-aged children: why should we care? *Food and Nutrition Bulletin*, 31: 400-417.
- BETHONY (J.), BROOKER (S.), ALBONICO (M.), GEIGER (S.M.), LOUKAS (A.) & DIEMERT (D.) & HOTEZ (P.J.), 2006.** Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *The Lancet*, 367: 1521-1532.

- BOEKE (C.E.), MORA-PLAZAS (M.), FORERO (Y.) & VILLAMOR (E.), 2010.** Intestinal protozoan infections in relation to nutritional status and gastrointestinal morbidity in Colombian schoolchildren. *Journal of Tropical Pediatrics*: fmp136.
- BOGAERTS (J.), LEPAGE (P.), ROUVROY (D.), VAN GOETHEM (C.), NSENGUMUREMYE (F.), MOHAMED (O.), HABYALIMANA (J.B.) & VANDEPITTE (J.), 1987.** Cryptosporidiosis in Rwanda: clinical and epidemiological features. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*, 67: 157-165.
- BORRÁS (R.), PRAT (J.), DOMÍNGUEZ (V.), ESTEBAN (E.) & MUÑOZ (C.), 2001.** Los eosinófilos en las enfermedades parasitarias. La eosinofilia periférica como signo de una parasitosis: A propósito de la parasitación por *Hymenolepis nana*. *Control de Calidad, Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*.
- BROOKER (S.), CLEMENTS (A.C.) & BUNDY (D.A.), 2006.** Global epidemiology, ecology and control of soil-transmitted helminth infections. *Advances in Parasitology*, 62: 221-261.

C

- CARABIN (H.), GUYATT (H.) & ENGELS (D.), 2000.** A comparative analysis of the cost-effectiveness of treatment based on parasitological and symptomatic screening for *Schistosoma mansoni* in Burundi. *Tropical Medicine & International Health*, 5:192-202.
- CARVALHO-COSTA (F.A.), GONÇALVES (A.Q.), LASSANCE (S.L.), NETO (S.), SALMAZO (C.A.) & BÓIA (M.N.), 2007.** *Giardia lamblia* and other intestinal parasitic infections and their relationships with nutritional status in children in Brazilian Amazon. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 49: 147-153.
- CASTILLO (Z.), MARTÍNEZ (I.) & ANTIGUA (J.), 1998.** Incidencia de *Giardia lamblia* y Ameba histolítica en niños menores de 10 años vistos en la consulta externa del Hospital Luis M. Morillo King, La Vega, enero-marzo 1997. *Revista Médica Dominicana*, 59: 185-187.
- CEREZALES (E.), 2009.** Valoración del estado nutricional de la población infantil de Guinea ecuatorial y su posible relación con el paludismo. (*Tesis Doctoral: Universidad Autónoma de Madrid*).
- CESSOU (S.), 2014.** Rwanda: Vingt ans après. *Politique Internationale*, 144.
- CLARK (C.G.), VAN DER GIEZENi (M.), ALFELLANI (M.A.) & STENSVOLD (C.R.), 2013.** Recent developments in *Blastocystis* research. *Advances in Parasitology*, 82: 1-32.
- CLEMENTS (A.C.), DEVILLE (M.A.), NDAYISHIMIYE (O.), BROOKER (S.) & FENWICK (A.), 2010.** Spatial co-distribution of neglected tropical diseases in the east African great lakes region: revisiting the justification for integrated control. *Tropical Medicine & International Health*, 15: 198-207.
- COMPREHENSIVE ÁFRICA AGRICULTURE DEVELOPMENT PROGRAMME (C.A.A.D.P.), 2013.** Nutrition Country Paper- Rwanda. *East and central Africa regional C.A.A.D.P. Nutrition Program Development Workshop*.
- CROMPTON (D.W.) & NESHEIM (M.C.), 2002.** Nutritional impact of intestinal helminthiasis during the human life cycle. *Annual Review of Nutrition*, 22: 35-59.

D

- DANAQUAH (I.), GAHUTU (J.B.), IGNATIUR (R.), MUSEMAKWERI (A.) & MOCKENHAUPT (F.P.), 2014.** Reduced prevalence of *Giardia duodenalis* in iron-deficient Rwandan children. *Tropical Medicine & International Health*, 19: 563-567.
- DIAMOND (L.S.) & CLARK (C.G.), 1993.** A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (Emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 40: 340-344.
- DUSHIMIMANA (A.), CONDO (J.) & MUNYANSHONGORE (C.), 2008.** La situation nutritionnelle et infections parasitaires chez les enfants de l'école primaire au Rwanda. *MINISANTE, Kigali-Rwanda*.

E

- ECHAZÚ (A.), BONANNO (D.), JUAREZ (M.), CAJAL (S.P.), HEREDIA (V.), CAROPRESI (S.), CIMINO (R.O.), CARO (N.), VARGAS (P.A.), PAREDES (G.) & KROLEWIECKI (A.J.), 2015.** Effect of poor access to water and sanitation as risk factors for soil-transmitted helminth infection: selectiveness by the infective route. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9: e0004111.
- EOM (K.S.), CHAI (J.Y.), YONG (T.S.), MIN (D.Y.), RIM (H.J.), KIHAMIA (C.) & JEON (H.K.), 2011.** Morphologic and genetic identification of *Taenia* tapeworms in Tanzania and DNA genotyping of *Taenia solium*. *The Korean Journal of Parasitology*, 49: 399-403.
- ERTUG (S.), KARAKAS (S.), OKAYAY (P.), ERGIN (F.) & ONCU (S.), 2006.** The effect of *Blastocystis hominis* on the growth status of children. *Medical Science Monitor*, 13: CR40-CR43.
- ESPINOZA (L.M.), SOTO (R.J.) & ALGER (J.), 1999.** Eosinofilia asociada a helmintiasis en niños. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 46.
- EZEAMAMA (A.E.), FRIEDMAN (J.F.), OLVEDA (R.MM), ACOSTA (L.P.), KURTIS (J.D.), MOR (V.) & MCGARVEY (S.T.), 2005.** Functional significance of low-intensity polyparasite helminth infections in anemia. *Journal of Infectious Diseases*, 192: 2160-2170.
- EZEAMAMA (A.E.), MCGARVEY (S.T.), ACOSTA (L.P.), ZIERLER (S.), MANALO (D.L.), WU (H.W.), KURTIS (J.D.), MOR (V.), OLVEDA (R.M.) & FRIEDMAN (J.F.), 2008.** The synergistic effect of concomitant schistosomiasis, hookworm, and *Trichuris* infections on children's anemia burden. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2: e245.

F

- FARTHING (M.J.G.), 1996.** Giardiasis. *Gastroenterology Clinics of North America*, 25: 493-515.
- FAYER (R.), 2010.** Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Experimental Parasitology*, 124: 90-97.
- FENG (Y.) & XIAO (L.), 2011.** - Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 24: 110-140.

- FLETCHER (S.M.), STARK (D.), HARKNESS (J.) & ELLIS (J.), 2012.** Enteric protozoa in the developed world: a public health perspective. *Clinical Microbiology Reviews*, 25: 420-449.
- FLOCH (P.J.), LAROCHE (R.), KADENDE (P.), NKURUNZIZA (T.) & MPFIZI (B.), 1988.** Parasites, etiologic agents of diarrhea in AIDS. Significance of duodenal aspiration fluid test. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique et de ses filiales*, 82: 316-20.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (F.A.O.), 2006.** The state of food insecurity in the world.
- FRANCIS (L.), KIRUNDA (B.E.) & ORACH (C.G.), 2012.** Intestinal helminth infections and nutritional status of children attending primary schools in Wakiso District, Central Uganda. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9: 2910-2921.
- FRANZEN (O.), JERLSTRÖM-HULTQVIST (J.), CASTRO (E.), SHERWOOD (E.), ANKARKLEV (J.), REINER (D.S.), PALM (D.), ANDERSSON (J.O.), ANDERSSON (B) & SVÄRD (S.G.), 2009.** Draft genome sequencing of giardia intestinalis assemblage B isolate GS: is human giardiasis caused by two different species? *PLoS Pathogens*, 21: e1000560.
- FRYE (K.), 2013.** Assessing the Nutritional Status of Primary School Children in Wakiso District Uganda. *Doctoral Dissertation, University of Pittsburgh*.

G

- GASANA (J.), MORIN (J.), NDIKUYEZE (A.) & KAMOSO (P.), 2002.** Impact of water supply and sanitation on diarrheal morbidity among young children in the socioeconomic and cultural context of Rwanda (Africa). *Environmental Research*, 90: 76-88.
- GEBRU (A.A.), TAMENE (B.A.), BIZUNEH (A.D.), AYENE (Y.Y.), SEMENE (Z.M.), HAILU (A.W.), NIGUSSIE (T.), SAMUEL (A.) & ASSEFA (M.K.), 2015.** Prevalence of intestinal parasites and associated risk factors at Red Cross Clinic and Chelaleki Health Center, East Wollega Zone, Ethiopia. *Science* 3: 445-452.
- GOMILA (B.), TOLEDO (R.) & ESTEBAN (J.G.), 2011.** Amebas intestinales no patógenas: una vision clinicoanalítica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29: 20-28.
- GORSTEIN (J.), SULLIVAN (K.), YIP (R.), ONIS (M.), TROWBRIDGE (F.), FAJANS (P) & CLUGSTON (G.), 1994.** Issues in the assessment of nutritional status using anthropometry. *Bulletin of the World Health Organization*, 72: 273.
- GOTLIB (J.), 2014.** World Health Organization-defined eosinophilic disorders: 2014 update on diagnosis, risk stratification, and management. *American Journal of Hematology*, 89: 325-337.
- GREEN (H.K.), SOUSA-FIGUEIREDO (J.C.), BASÁÑEZ (M.G.), BETSON (M.), KABATEREINE (N.B.), FENWICK (A.), STOTHARD (J.R.), 2011.** Anaemia in Ugandan preschool-aged children: the relative contribution of intestinal parasites and malaria. *Parasitology*, 138: 1534-1545.
- GRYSEELS (B.), NKULIKYINKA (L.), KABAHIKI (E.) & MAREGEYA (E.), 1987.** A new focus of *Schistosoma mansoni* in the highlands of Burundi. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*, 67: 247-257.

GUYATT (H.L.), BROOKER (S.), KIHAMIA (C.M.), HALL (A.) & BUNDY (D.A.), 2001. Evaluation of efficacy of school-based anthelmintic treatments against anaemia in children in the United Republic of Tanzania. *Bulletin of the World Health Organization*, 79: 695-703.

H

HADFIELD (S.J.), ROBINSON (G.), ELWIN (K.) & CHALMERS (R.M.), 2011. Detection and differentiation of *Cryptosporidium* spp. in human clinical samples by use of real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 49: 918-924.

HAGHIGHI (A.), KOBAYASHI (S.), TAKEUCHI (T.), MASUDA (G.) & NOZAKI (T.), 2002. Remarkable genetic polymorphism among *Entamoeba histolytica* isolates from a limited geographic area. *Journal of Clinical Microbiology*, 40: 4081-4090.

HAMZAH (Z.), PETMITR (S.), MUNGTHIN (M.), LEELAYOOVA (S.) & CHAVALITSEWINKOON-PETMITR (P.), 2006. Differential detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, and *Entamoeba moshkovskii* by a single-round PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 44: 3196-3200.

HANOTIER (J.) & GIGASE (P.L.), 1981. Note on a new focus of schistosomiasis (*S. mansoni*) in Rwanda. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale*, 61: 93-98.

HARHAY (M.O.), HORTON (J.) & OLLIARO (P.L.), 2010. - Epidemiology and control of human gastrointestinal parasites in children. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 8: 219-234.

HEIMER (J.), STAUDACHER (O.), STEINER (F.), KAYONGA (Y.), HAVUGIMANA (J.M.), MUSEMAKWERI (A.), HARMS (G.), GAHUTU (J.B.) & MOCKENHAUPT (F.P.), 2015. Age-dependent decline and association with stunting of *Giardia duodenalis* infection among schoolchildren in rural Huye district, Rwanda. *Acta Tropica* 145: 17-22.

HERNÁNDEZ (M.), 2007. Epidemiología: diseño y análisis de estudios. *Instituto Nacional de Salud Pública, Ed. Médica Panamericana*.

HLAING (T.), KHINE (W.W.), THAN (T.T.), KHIN (M.), SAW (T.), SHWE (S.), GYI (M.M.), TUN (A.), ZIN (H.N.) & AYE (P.P.), 2003. Impact of deworming on the growth of schoolchildren in Yangon. *Geneva, World Health Organization*: 43-54.

HOTEZ (P.J.), BUNDY (D.A.), BEEGLE (K.), BROOKER (S.) DRAKE (L.), DE SEILVA (N.), MONTRESOR (A.), ENGELS (D.), JUKES (M.), CHITSULO (L.) & CHOW (J.), 2006. Helminth infections: soil-transmitted helminth infections and schistosomiasis. *Capítulo 24, Disease Control Priorities in Developing Countries 2ª edición. Nueva York, Oxford University Press*, pp. 467-482.

HOUP (E.R.), BUSHEN (O.Y.), SAM (N.E.), KOHLI (A.), ASGHARPOUR (A.), NG (C.T.), CALFEE (D.P.), GUERRANT (R.L.), MARO (V.), OLE—NGUYAINE (S.) & SHAO (J.F.), 2005. Asymptomatic *Cryptosporidium hominis* Infection Among Human Immunodeficiency Virus–Infected Patients in Tanzania. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 73: 520-522.

I

- IGNATIUS (R.), GAHUTU (J.B.), KLOTZ (C.), STEININGER (C.), SHYIRAMBERE (C.), LYNG (M.), MUSEMAKWERI (A.), AEBISCHER (T.), MARTUS (P.), HARMS (G.) & MOCKENHAUPT (F.P.), 2012.** High prevalence of *Giardia duodenalis* Assemblage B infection and association with underweight in Rwandan children. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6: e1677.
- IGNATIUS (R.), GAHUTU (J.B.), KLOTZ (C.), MUSEMAKWERI (A.), AEBISCHER (T.) & MOCKENHAUPT (F.P.), 2014.** Detection of *Giardia duodenalis* assemblage A and B isolates by immunochromatography in stool samples from Rwandan children. *Clinical Microbiology and Infection*, 20: O783-O784.
- INSTITUT DE STATISTIQUES ET D'ÉTUDES ÉCONOMIQUES DU BURUNDI (I.S.T.E.E.B.U.), 2012.** Ministère de la Santé Publique et de la Lutte contre le Sida: Enquête sur les Indicateurs du Paludisme. *Bujumbura, Burundi: I.S.T.E.E.B.U., M.S.P.L.S., et I.C.F. International*.
- INSTITUT DE STATISTIQUES ET D'ÉTUDES ÉCONOMIQUES DU BURUNDI (I.S.T.E.E.B.U.), 2010.** Ministère de la Santé Publique et de la Lutte contre le Sida: Enquête Démographique et de Santé Burundi. *Bujumbura, Burundi: I.S.T.E.E.B.U., M.S.P.L.S., et I.C.F. International*.
- IVAN (E.), CROWTHER (N.J.), MUTIMURA (E.), OSUWAT (L.O.), JANSSEN (S.) & GROBUSCH (M.P.), 2013.** Helminthic infections rates and malaria in HIV-infected pregnant women on anti-retroviral therapy in Rwanda. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7: e2380.

J

- JERLSTRÖM-HULTQVIST (J.), FRANZEN (O.), ANKARKLEV (J.), XU (F.), NOHÝNKOVA (E.), ANDERSSON (J.O.), SVÄRD (S.G.) & ANDERSSON (B), 2010.** - Genome analysis and comparative genomics of a *Giardia intestinalis* assemblage E isolate. *BMC Genomics*, 11: 543-555.

K

- KABATEREINE (N.B.), TUKAHEBWA (E.M.), KAZIBWE (F.), TWA-TWA (J.M.), BARENZI (J.F.Z), STOTHARD (J.R.), FENWICK (A.) & BROOKER (S.), 2005.** Short communication: Soil-transmitted helminthiasis in Uganda: epidemiology and cost of control. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68: 710-715.
- KABATEREINE (N.B.), BROOKER (S.), KOUKOUNARI (A.), KAZIBWE (F.), TUKAHEBWA (E.M.), FLEMING (F.M.), ZHANG (Y.), WEBSTER (J.P.), STOTHARD (J.R.) & FENWICK (A.), 2007.** Impact of a national helminth control programme on infection and morbidity in Ugandan schoolchildren. *Bulletin of the World Health Organization*, 85: 91-99.
- KABONGO (M.M.), 2012.** Impact of Schistosomiasis in Kasansa Health Zone in Democratic Republic of Congo. *Master Degree Thesis, Georgia State University*.
- KAMINSKY (R.G.), FLORES (R.), ALBERTO (S.) & MILLA (V.), 1998.** Prevalencia de parasitismo intestinal en diferentes poblaciones de Honduras. *Revista Médica Hondureña*, 66: 62-70.

- KANDALA (N.B.), MADUNGU (T.P.), EMINA (J.B.), NZITA (K.P.) & CAPPUCCIO (F.P.), 2011.** Malnutrition among children under the age of five in the Democratic Republic of Congo (DRC): does geographic location matter? *BMC Public Health* 11: 261-275.
- KANOBANA (K.), PRAET (N.), KABWE (C.), DORNY (P.), LUKANU (P.), MADIGA (J.), MITASHI (P.), VERWIJS (M.), LUTUMBA (P.), POLMAN (K.), 2011.** High prevalence of *Taenia solium* cysticercosis in a village community of Bas-Congo, Democratic Republic of Congo. *International Journal for Parasitology*, 41: 1015-1018.
- KARAGIANNIS-VOULES (D.A.), BIEDERMANN (P.), EKPO (U.F.), GARBA (A.), LANGER (E.), MATHIEU (E.), MIDZI (N.), MWINZI (P.), POLDERMAN (A.M.), RASO (G.) & SACKO (M.), 2015.** Spatial and temporal distribution of soil-transmitted helminth infection in sub-Saharan Africa: a systematic review and geostatistical meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 15: 74-84.
- KATO (K.) & MIURA (M.), 1954.** Comparative examinations. *Japanese Journal of Parasitology*, 3: 35.
- KATONA (P.) & KATONA-APTE (J.), 2008.** The interaction between nutrition and infection. *Clinical Infectious Diseases*, 46: 1582-1588.
- KATZ (N.), CHAVES (A.) & PELLEGRINO (J.), 1972.** - A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 14: 397-400.
- KINUNG'HI (S.M.), MAGNUSSEN (P.), KAAATANO (G.M.), KISHAMAWE (C.) & VENNERVALD (B.J.), 2014.** Malaria and helminth co-infections in school and preschool children: a cross-sectional study in Magu district, north-western Tanzania. *PLoS One*, 9: e86510.
- KNIGHT (W.B.), HIATT (R.A.), CLINE (B.L.) & RITCHIE (L.S.), 1976.** A modification of the formol-ether concentration technique for increased sensitivity in detecting *Schistosoma mansoni* eggs. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 55: 818-823.
- KNOPP (S.), MOHAMMED (K.A.), ROLLINSON (D.), STOTHARD (J.R.), KHAMIS (I.S.), UTZINGER (J.) & MARTI (H.), 2009.** Changing patterns of soil-transmitted helminthiasis in Zanzibar in the context of national helminth control programs. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 1071-1078.
- KNOPP (S.), MOHAMMED (K.A.), STOTHARD (J.R.), KHAMIS (I.S.), ROLLINSON (D.), MARTI (H.) & UTZINGER (J.), 2010.** Patterns and risk factors of helminthiasis and anemia in a rural and a peri-urban community in Zanzibar, in the context of helminth control programs. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 4: e681.
- KNOPP (S.), STEINMANN (P.), KEISER (J.) & UTZINGER (J.), 2012.** Nematode infections: soil-transmitted helminths and *Trichinella*. *Infectious Disease Clinics of North America*, 26: 341-358.
- KOLACZINSKI (J.H.), KABATEREINE (N.B.), ONAPA (A.W.), NDYOMUGYENYI (R.), KAKEMBO (A.S.) & BROOKER (S.), 2007.** Neglected tropical diseases in Uganda: the prospect and challenge of integrated control. *Trends in Parasitology*, 23: 485-493.
- KOMIYA (Y.) & KOBAYASHI (A.), 1966.** Evaluation of Kato's thick smear technic with a cellophane cover for helminth eggs in feces. *Japanese Journal of Medical Science and Biology*, 19: 59-64.

L

LWAMBO (N.J.), BROOKER (S.), SIZA (J.E.), BUNDY (D.A.) & GUYATT (H.), 2000. Age patterns in stunting and anaemia in African schoolchildren: a cross-sectional study in Tanzania. *European Journal of Clinical Nutrition*, 4: 36-40.

LYIMO (B.), BUZA (J.) & SHAHADA (F.), 2014. A review of the biology and detection methods of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. in water sources and situation in Tanzania. *World*, 1: 1-2.

M

MANGANELLI (L.), BERRILLI (F.), DI CAVE (D.), ERCOLI (L.), CAPELLI (G.), OTRANTO (D.) & GIANGASPERO (A.), 2012. Intestinal parasite infections in immigrant children in the city of Rome, related risk factors and possible impact on nutritional status. *Parasite & Vector*, 5: 265-269.

MARTIN (L.K.) & BEAVER (P.C.), 1968. Evaluation of Kato thick-smear technique for quantitative diagnosis of helminth infections. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 17: 382-391.

MARTÍNEZ-VACA (W.L.), 2003. Estadística descriptiva con énfasis en salud pública. *Editorial la Hoguera, España*.

MASON (J.B.), MUSGROVE (P.) & HABICHT (J.P.), 2003. At least one-third of poor countries disease burden is due to malnutrition. *Disease Control Priorities Project, Working Paper nº 1, Batehsda*.

MATANGILA (J.R.), DOUA (J.Y.), LINSUKE (S.), MADINGA (J.), DA LUZ (R.I.), VAN GEERTRUYDEN (J.P.) & LUTUMBA (P.), 2014. Malaria, schistosomiasis and soil transmitted helminth burden and their correlation with anemia in children attending primary schools in Kinshasa, Democratic Republic of Congo. *PLoS One*, 9: e110789.

MAZIGO (H.D.), AMBROSE (E.E.), ZINGA (M.), BAHEMANA (E.), MNYONE (L.L.), KWEKA (E.J.) & HEUKELBACH (J.), 2010a. Prevalence of intestinal parasitic infections among patients attending Bugando Medical Centre in Mwanza, north-western Tanzania: a retrospective study. *Tanzania Journal of Health Research*, 12: 178-182.

MAZIGO (H.D.), WAIHENYA (R.), LWAMBO (N.J.), MNYONE (L.L.), MAHANDE (A.M.), SENI (J.), ZINGA (M.), KAPESA (A.), KWEKA (E.J.), MSHANA (S.E.) & HEUKELBACH (J.), 2010b. Co-infections with *Plasmodium falciparum*, *Schistosoma mansoni* and intestinal helminths among schoolchildren in endemic areas of northwestern Tanzania. *Parasites & Vectors*, 3:1.

MCELLIGOTT (J.T.), NAAKTEBOREN (C.), MAKUMA-MASSA (H.), SUMMER (A.P.) & DEAL (J.L.), 2013. Prevalence of intestinal protozoa in communities along the Lake Victoria region of Uganda. *International Journal of Infectious Diseases*, 17: e658-659.

MINISTÈRE DU PLAN ET SUIVI DE LA MISE EN OEUVRE DE LA RÉVOLUTION DE LA MODERNITÉ (M.P.S.M.R.M.), 2014. Democratic Republic of Congo Demographic and Health Survey 2013-14, Key Findings. *Rockville, Maryland, USA: MPSMRM, MSP et ICF International*.

- MINISTRY OF HEALTH (M.O.H.), 2010.** - The Rwanda NTD Control Program: cost effectiveness evaluation of mass drug administration for soil-transmitted helminths and schistosomiasis. *MOH and Access Project, Kigali, Rwanda: 1-30.*
- MONDAL (D.), PETRI (W.A.), SACK (R.B.), KIRKPATRICK (B.D.) & HAQUE (R.), 2006.** *Entamoeba histolytica*-associated diarrheal illness is negatively associated with the growth of preschool children: evidence from a prospective study. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 100: 1032-1038.
- MONTRESOR (A.), CROMPTON (D.W.), HALL (A.), BUNDY (D.A.) & SAVIOLI (L.), 1998.** Guidelines for the evaluation of soil-transmitted helminthiasis and schistosomiasis at community level. *Geneva: World Health Organization.*
- MONTRESOR (A.), RAMSAN (M.), CHWAYA (H.M.), AMEIR (H.), FOUM (A.), ALBONICO (M.), GYORKOS (T.W.) & SAVIOLI (L.), 2001.** School enrolment in Zanzibar linked to children's age and helminth infections. *Tropical Medicine & International Health*, 6: 227-231.
- MORENS (D.M.), FOLKERS (G.K.) & FAUCI (A.S.), 2004.** The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature*, 430: 242-249.
- MUGONO (M.), KONJE (E.), KUHN (S.), MPOGORO (F.J.), MORONA (D.) & MAZIGO (H.D.), 2014.** Intestinal schistosomiasis and geohelminths of Ukara Island, North-Western Tanzania: prevalence, intensity of infection and associated risk factors among schoolchildren. *Parasites & Vectors*, 7: 1.
- MUKAYA (J.E.), DDUNGU (H.), SSALI (F.), OSHEA (T.) & CROWTHER (M.A.), 2009.** Prevalence and morphological types of anaemia and hookworm infestation in the medical emergency ward, Mulago Hospital, Uganda. *South African Medical Journal*, 99: 881-886.
- MULLIS (K.), FALOONA (F.), SCHARF (S.), SAIKI (R.), HORN (G.) & ERLICH (H.), 1986.** Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposium in Quantitative Biology*, 51: 263-273.
- MUÑOZ-ANTOLI (C.), PAVÓ (A.), MARCILLA (A.), TOLEDO (R.) & ESTEBAN (J.G.), 2014.** Prevalence and risk factors related to intestinal parasites among children in Department of Rio San Juan, Nicaragua. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 108: 774-782.
- MUPFASONI (D.), KARIBUSHI (B.), KOUKOUNARI (A.), RUBERANZIZA (E.), KABERUKA (T.), KRAMER (M.H.), MUKABAYIRE (O.), KABERA (M.), NIZEYIMANA (V.), DEVILLE (M.A.) & RUXIN (J.), 2009.** Polyparasite helminth infections and their association to anaemia and undernutrition in Northern Rwanda. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 3: e517.
- MURRAY (P.), BARON (E.), JORGENSEN (J.), PEALLER (M.) & YOLKEN (R.), 2003.** Manual of Clinical Microbiology. 8th Ed, Washington DC: ASM Press.
- MWANJALI (G.), KIHAMIA (C.), KAKOKO (D.V.), LEKULE (F.), NGOWI (H.), JOHANSEN (M.V.), THAMSBORG (S.M.) & WILLINGHAM (A.L.), 2013.** Prevalence and risk factors associated with human *Taenia solium* infections in Mbozi District, Mbeya Region, Tanzania. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7: e2102.

N

- NATIONAL INSTITUTE OF STATISTICS OF RWANDA (N.I.S.R.), 2010.** Rwanda Demographic and Health Survey. *Ministry of Health of Rwanda and ICF International.*
- NATIONAL INSTITUTE OF STATISTICS OF RWANDA (N.I.S.R.), 2015.** Rwanda Demographic and Health Survey. *Ministry of Health of Rwanda and ICF International.*
- NDAYISHIMIYE (O.), ORTU (G.), MAGALHAES (R.J.), CLEMENTS (A.), WILLEMS (J.), WHITTON (J.), LANCASTER (W.), HOPKINS (A.) & FENWICK (A.), 2014.** Control of neglected tropical diseases in Burundi: partnerships, achievements, challenges, and lessons learned after four years of programme implementation. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8: e2684.
- NICHOLS (R.A.B.), MOORE (J.E.) & SMITH (H.V.), 2006.** A rapid method for extracting oocyst DNA from *Cryptosporidium*-positive human faeces for outbreak investigations. *Journal of Microbiological Methods*, 65: 512-524.
- NIYIZURUGERO (E.), NDAYANZE (J.B.) & BERNARD (K.), 2013.** Prevalence of intestinal parasitic infections and associated risk factors among Kigali institute of education students in Kigali, Rwanda. *Tropical Biomedicine*, 30: 718-726.
- NSENGIYUMVA (G.), DRUET-CABANAC (M.), RAMANAKANDRASANA (B.), BOUTEILLE (B.), NSIZABIRA (L.) & PREUX (P.M.), 2003.** Cysticercosis as a major risk factor for epilepsy in Burundi, east Africa. *Epilepsia*, 44: 950-955.
- NUNDU (S.S.), ALONI (M.N.), LINSUKE (S.W.), EKILA (M.B.), SITUAKIBANZA (H.T.), POLMAN (K.), & LUTUMBA (P.T.), 2014.** Prevalence of geohelminth infections in children living in Kinshasa. *Archives de Pediatrie*, 21: 579-583.
- NÚÑEZ-FERNANDEZ (F.A.), SANJURJO-GONÁLEZ (E.) & VILLAVILLA (C.M.), 1991.** Comparison of several coproparasitological techniques for diagnosis of soil-transmitted helminthiasis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 33: 403-406.

O

- ONIS (M.D.), ONYANGO (A.W.), BORGHİ (E.), SIYAM (A.), NISHEIDA (C.) & SIEKMANN (J.), 2007.** Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bulletin of the World Health Organization*, 85: 660-667.
- OUTWATER (A.H.), PAMBA (S.) & OUTWATER (A.B.), 2013.** Water-related Diseases of People using Municipal Wastewater: Risks, Exposure, Effects on Health and Control Approaches in Tanzania. (Internet) Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Anne_Outwater/publication/281320453_Water-related_Diseases_of_People_using_Municipal_Wastewater_Risks_Exposure_Control_Approaches_and_Effects_on_Health_in_Tanzania/links/55e1ca0d08ae2fac471f5cae.pdf

P

- PIRESTANI (M.), SADRAEI (J.), ABDOLHOSSEIN (D.), ZAVVAR (M.) & VAEZANIA (H.), 2008.** Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates, Iran. *Parasitology Research*, 103: 467-472.

Q

QUIHUI (L.), MORALES (G.G.), MÉNDEZ (R.O.), LEYVA (J.G.), ESPARZA (J.) & VALENCIA (M.E.), 2010. Could giardiasis be a risk factor for low zinc status in schoolchildren from northwestern Mexico? A cross-sectional study with longitudinal follow-up. *BMC Public Health*, 10: 85-91.

R

RIMOIN (A.W.) & HOTEZ (P.J.), 2013. - NTDs in the heart of darkness: the Democratic Republic of Congo's unknown burden of neglected tropical diseases. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7: e21118.

RITCHIE (L.S.), 1948. An ether sedimentation technique for routine stool examination. *Bulletin of Unites State Medical Department*, 8: 326-330.

ROBERTS (T.), BARRATT (J.), HARKNESS (J.), ELLIS (J.) & STARK (D.), 2011. Comparison of microscopy, culture, and conventional polymerase chain reaction for detection of *Blastocystis* sp. in clinical stool samples. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 84: 308-312.

ROBERTSON (L.J.), CROMPTON (D.W.), SANJUR (D.) & NESHEIM (M.C.), 1992. Haemoglobin concentrations and concomitant infections of hookworm and *Trichuris trichiura* in Panamanian primary schoolchildren. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 86: 654-656.

ROJAS (H.C.), 2010. Eosinofilia y parasitosis. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 593: 241-244.

ROSSI (L.), VERNA (D.) & VILLENEUVE (S.L.), 2008. The humanitarian emergency in Burundi: evaluation of the operational strategy for management of nutritional crisis. *Public Health Nutrition*, 11: 699-705.

ROTTBECK (R.), NSHIMIYIMANA (J.F.), TUGIRIMANA (P.), DULL (U.E.), SATTLER (J.), HATEGEKIMANA (J.C.), HITAYEZU (J.), BRUCKMAIER (I.), BORCHERT (M.), GAHUTU (J.B.) & DIECKMANN (S.), 2013. High prevalence of cysticercosis in people with epilepsy in southern Rwanda. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7: e2558.

RYAN (U.) & HIJAWI (N.), 2015. New developments in *Cryptosporidium* research. *International Journal for Parasitology*, 45: 367-373.

S

SALIM (N.), SCHINDLER (T.), ABDUL (U.), ROTHEN (J.), GENTON (B.), LWENO (O.), MOHAMMED (A.S.), MASIMBA (J.), KWABA (D.), ABDULLA (S.) & TANNER (M.), 2014. Enterobiasis and strongyloidiasis and associated co-infections and morbidity markers in infants, preschool-and school-aged children from rural coastal Tanzania: a cross-sectional study. *BMC Infectious Diseases*, 14: 1.

SALIM (N.), KNOPP (S.), LWENO (O.), ABDUL (U.), MOHAMED (A.), SCHINDLER (T.), ROTHEN (J.), MASIMBA (J.), KWABA (D.), MOHAMMED (A.S.) & ALTHAUS (F.), 2015. Distribution and risk factors for *Plasmodium* and helminth co-infections: a cross-sectional survey among

Bibliografía

- children in Bagamoyo district, coastal region of Tanzania. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9: e0003660.
- SAMBROOK (J.), FRITSCH (E.F.) & MANIATIS (T.), 1989.** - Molecular cloning. A laboratory manual. *Volumen I, II y III. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.*
- SANDOVAL (N.), 2012.** Parasitosis intestinal en países en desarrollo. *Revista Médica Hondureña*, 80: 89.
- SANTOS (F.L.), SOUZA (A.M.) & SOARES (N.M.), 2013.** Hookworm and threadworm infections and their association with hemoglobin and eosinophil concentrations in residents of Salvador-Bahia, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 55: 233-238.
- SAVIOLI (L.), SMITH (H.) & THOMPSON (A.), 2006.** *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'neglected diseases initiative'. *Trends in Parasitology*, 22: 203-208.
- SHAPIRO (A.E.), TUKAHEBWA (E.M.), KASTEN(J.), CLARKE (S.E.), MAGNUSSEN (P.), OLSEN (A.), KABATEREINE (N.B.), NDYOMUGYENYI (R.) & BROOKER (S.), 2005.** - Epidemiology of helminth infections and their relationship to clinical malaria in southwest Uganda. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 99: 18-24.
- SIWILA (J.) & OLSEN (A.), 2015.** Risk Factors for Infection with Soil Transmitted Helminths, *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in Children Enrolled in Preschools in Kafue District, Zambia. *Epidemiology Research International*, 2015: 1-7.
- SOLANO (L.), ACUÑA (I.), BARÓN (M.A.), MORÓN DE SALIM (A.), SÁNCHEZ (A.), 2008.** Influencia de las parasitosis intestinales y otros antecedentes infecciosos sobre el estado nutricional antropométrico de niños en situación de pobreza. *Parasitología Latinoamericana* 63: 12-19.
- SOUPPART (L.), MOUSSA (H.), CIAN (A.), SANCIU (G.), POIRIER (P.), EL ALAOUI (H.), DELBAC (F.), BOOROM (K.), DELHAES (L.), DEI-CAS (E.) & VISCOGLIOSI (E.), 2010.** Subtype analysis of *Blastocystis* isolates from symptomatic patients in Egypt. *Parasitology Research*, 106: 505-511.
- SPEICH (B.), AME (S.M.), ALI (S.M.), ALLES (R.), HATTENDORF (J.), UTZINGER (J.), ALBONICO (M.) & KEISER (J.), 2012.** Efficacy and safety of nitazoxanide, albendazole, and nitazoxanide-albendazole against *Trichuris trichiura* infection: a randomized controlled trial. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6: e1685.
- SPEICH (B.), MARTI (H.), AME (S.M.), ALI (S.M.), BOGOCH (I.I), UTZINGER (J.), ALBONICO (M.) & KEISER (J.), 2013.** Prevalence of intestinal protozoa infection among school-aged children on Pemba Island, Tanzania, and effect of single-dose albendazole, nitazoxanide and albendazole-nitazoxanide. *Parasites & Vectors*, 6: 1-8.
- STANDLEY (C.J.), ADRIKO (M.), ALINAITWE (M.), KAZIBWE (F.), KABATEREINE (N.B.) & STOTHARD (J.R.), 2009.** Intestinal schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in Ugandan schoolchildren: a rapid mapping assessment. *Geospatial Health*, 4: 39-53.
- STANLEY (S.L.), 2003.** Amoebiasis. *The Lancet*, 361: 1025-1034.
- STARK (D.), VAN HAL (S.), FOTEDAR (R.), BUTCHER (A.), MARRIOTT (D.), ELLIS (J.) & HARKNESS (J.), 2008.** Comparison of stool antigen detection kits to PCR for diagnosis of amebiasis. *Journal of Clinical Microbiology*, 46: 1678-1681.
- STARK (D.), AL-QASSAB (S.E.), BARRATT (J.L.), STANLEY (K.), ROBERTS (T.), MARRIOTT (D.), HARKNESS (J.) & ELLIS (J.T.), 2011.** Evaluation of multiplex tandem real-time PCR for

detection of *Cryptosporidium* spp., *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba histolytica*, and *Giardia intestinalis* in clinical stool samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 49: 257-262.

STAUDACHER (O.), HEIMER (J.), STEINER (F.), KAYONGA (Y.), HAVUGIMANA (J.M.), IGNATIUS (R.), MUSEMAKWERI (A.), NGABO (F.), HARMS (G.), GAHUTU (J.B.) & MOCKENHAUPT (F.P.), 2014. Soil-transmitted helminths in southern highland Rwanda: associated factors and effectiveness of school-based preventive chemotherapy. *Tropical Medicine & International Health*, 19: 812-824.

STENSVOLD (C.R.), SURESH (G.) & TAN (S.W.K.), 2007. Terminology for *Blastocystis* subtypes- a consensus. *Trends in Parasitology*, 23: 93-96.

STEPHENSON (L.S.), 1993. Helminth parasites, a major factor in malnutrition. *World Health Forum*, vol.15, num. 2.

STEPHENSON (L.S.), LATHAM (M.C.) & OTTESEN (E.A.), 2000. Malnutrition and parasitic helminth infections. *Parasitology*, 121: S23-S38.

STERLING (C.R.) & ADAM (R.D.), 2004. The pathogenic enteric protozoa: *Giardia*, *Entamoeba*, *Cryptosporidium* and *Cyclospora*. *Kluwer Academy Publication*, Boston.

STOLTZFUS (R.J.), CHWAYA (H.M.), TIELSCH (J.M.), SCHULZE (K.J.), ALBONICO (M.) & SAVIOLI (L.), 1997. Epidemiology of iron deficiency anemia in Zanzibari schoolchildren: the importance of hookworms. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 65: 153-159.

SULLIVAN (K.M.), MEI (Z.), GRUMMER-STRAWN (L.) & PARVANTA (I.), 2008. Haemoglobin adjustments to define anaemia. *Tropical Medicine and International Health*, 13: 1267-1271.

T

TAN (K.S.), MIRZA (H.), TEO (J.D.), WU (B.) & MACARY (P.A.), 2010. Current views on the clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Current Infectious Disease Reports*, 12: 28-35.

TRIPATHY (K.), DUQUE (E.), BOLAÑOS (O.), LOTERO (H.) & MAYORAL (L.G.), 1972. Malabsorption syndrome in ascariasis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 25: 1276-1281.

TUMWINE (J.K.), KEKITIINWA (A.), NABUKEERA (N.), AKIYOSHI (D.E.), RICH (S.M.), WIDMER (G.), FENG (X.) & TZIPORI (S.), 2003. *Cryptosporidium parvum* in children with diarrhea in Mulago Hospital, Kampala, Uganda. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68: 710-715.

U

UGANDA BUREAU OF STATISTICS (U.B.O.S.), 2015. Uganda Malaria Indicator Survey 2014-15. *Kampala, Uganda, and Rockville, Maryland, USA: UBOS and ICF International*.

V

- VAN LIESHOUT (L.) & VERWEIJ (J.J.), 2010.** Newer diagnostic approaches to intestinal protozoa. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 23: 488-493.
- VEENEMANS (J.), MANK (T.), OTTENHOF (M.), BAIDJOE (A.), MBUGI (E.V.), DEMIR (A.Y.), WIELDERS (J.P.), SAVELKOUL (H.F.) & VERHOEF (H.), 2011.** Protection against diarrhea associated with *Giardia intestinalis* is lost with multi-nutrient supplementation: a study in Tanzanian children. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5: e1158.

W

- WEITZEL (T.), DITTRICH (S.), MÖHL (I.), ADUSU (E.) & JELINEK (T.), 2006.** Evaluation of seven commercial antigen detection tests for *Giardia* and *Cryptosporidium* in stool samples. *Clinical Microbiology and Infection*, 12: 656-659.
- WISBAUM (W.), 2011.** La desnutrición infantil, causas consecuencias y estrategias para su prevención y tratamiento. *UNICEF, Madrid*.
- WOODBURN (P.W.), MUHANGI (L.), HILLIER (S.), NDIBAZZA (J.), NAMUJI (P.B.), KIZZA (M.), AMEKE (C.), OMODING (N.E.), BOOTH (M.) & ELLIOTT (A.M.), 2009.** Risk factors for helminth, malaria, and HIV infection in pregnancy in Entebbe, Uganda. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 3: e473.
- WORLD FOOD PROGRAMME (W.F.P.), 2016.** WFP- Country brief Burundi. (Internet) Disponible en:http://documents.wfp.org/stellent/groups/public/documents/ep/wfp274684.pdf?_ga=1.147184631.13385631.1464359446
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (W.H.O.), 1991.** Basic laboratory methods in medical Parasitology. *Geneva, World Health Organization*.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (W.H.O.), 1995.** Physical status: The use of and interpretation of anthropometry, *Report of a WHO Expert Committee, Geneva, World Health Organization*.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (W.H.O.), 1997.** *Entamoeba* taxonomy. *Bulletin of the World Health Organization, Geneva, World Health Organization*, 75: 291-292.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (W.H.O.), 2001.** Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control: a guide for programme managers. *Geneva, World Health Organization*.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (W.H.O.), 2009.** Abordar las enfermedades tropicales desatendidas con el enfoque de los derechos humanos. (Internet) Disponible en: www.who.int/neglected_diseases/Human_rights_approach_to_NTD_Spa.pdf.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (W.H.O.), 2011.** The global prevalence of anaemia in 2011. *Geneva: World Health Organization*.
- WUMBA (R.), LONGO-MBENZA (B.), MANDINA (M.), WOBIN (T.O.), BILINGUI (S.), SALA (J.), BRETON (J.) & THELLIER (M.), 2010.** Intestinal parasites infections in hospitalized AIDS patients in Kinshasa, Democratic Republic of Congo. *Parasite*, 17: 321-328.

X

XIAO (L.), FAYER (R.), RYAN (U.) & UPTON (S.J.), 2004. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for Public Health. *Clinical Microbiology Reviews*, 17: 72-97.

Y

YAP (P.), UTZINGER (J.), HATTENDORF (J.) & STEINMANN (P.), 2014. Influence of nutrition on infection and re-infection with soil-transmitted helminths: a systematic review. *Parasites Vectors*, 7: 229.

Z

ZHANG (Y.), KOUKOUNARI (A.), KABATEREINE (N.), FLEMING (F.), KAZIBWE (F.), TUJAHEBWA (E.), STOTHARD (J.R.), WEBSTER (J.P.), FENWICK (A.), 2007. Parasitological impact of 2-year preventive chemotherapy on schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in Uganda. *BMC Medicine*, 5: 1.

ANEXOS

ANEXO 1.-



Dr. D. Mariano Pérez Arroyo
Departamento de Fisiología

Elche, a 7 de Marzo de 2012

Por la presente, le comunico que, una vez estudiado y evaluado por la Comisión de Ética en la Investigación Experimental de la Universidad Miguel Hernández los procedimientos experimentales del proyecto titulado:

Centro de prevención y control de enfermedades infecciosas y parasitarias, con especial proyección a la patología dermatológica, en la población infantil del sector Nemba, Distrito Gakenke, Rwanda.

Ha sido **APROBADO**, para su ejecución, dependiendo de la disponibilidad de las instalaciones de la Universidad Miguel Hernández para su efectiva realización..

La referencia del proyecto aprobado es:

Proyecto	Referencia
Centro de prevención y control de enfermedades infecciosas y parasitarias, con especial proyección a la patología dermatológica, en la población infantil del sector Nemba, Distrito Gakenke, Rwanda	DF-MPA-001-11

Atentamente,

Fernando Borrás Rocher
Presidente de la Comisión Ética en la Investigación Experimental
Vicerrector de Investigación e Innovación

NOTA: CADUCA A LOS TRES AÑOS DE SU FIRMA, CONTADOS A PARTIR DE LA NOTIFICACIÓN DE LA CONCESIÓN DE LA AYUDA.



Comisión de Ética en la Investigación Experimental
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN
UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

ANEXO 2.-



PROYECTO: “Centro de prevención y control de enfermedades infecciosas y parasitarias, con especial proyección a la patología dermatológica, en la población infantil del sector Nemba, Distrito Gakenke, Rwanda”. **Investigador Principal:** Dr. Mariano Pérez Arroyo.

INFORMED CONSENT

Between the 22nd of August and 23th September /2011, the University Miguel Hernández, with authorization from the local civil and ecclesiastical authorities, aims to carry out a study of intestinal parasites in the children at Nemba 1 district school. The study forms part of the School Health Program and will require the provision of a feces sample and blood sample from all participating children. Children that require treatment will be provided with treatment free of charge at the end of the study. In order to include your child in the study, we request your consent.

I....., parent/guardian
of.....have read and understood the above, and hereby provide my consent for my child to take part in study.

Signed.....

GUSABA UBUFASHA

Kuva ku itariki ya 22 Kanama, kugeza kuya 23 Nzeri/ 2011; Ishuri rikuru rya MIGUEL HERNANDEZ (Esipanye) ribiherewe uruhushya n’abayobozi ba Leta n’ aba Kiliziya Gatorika ; riri gukora ubushakashatsi ku inzoka zo munda ku bana biga ku Kigo cy’ amashuri abanza cya Nemba1. Abanyeshuri bakorerwaho ubushakashatsi basabwa kuzana umusarane. Iyo bawugejeje ku ishuri batanga n’amaraso. Abo bizagaragara ko bagomba guhabwa imiti, bazayihabwa ku buntu ubwo bushakashatsi burangiye gukorwa. Kugirango umwana wawe aje mu mubare w’ abazakorerwaho ubushakashatsi, urasabwa kubigiramo uruhare.

Njyewe....., umubyeyi/umurezi
wa.....maze gusoma no kumva ibyavuzwe haruguru, nemeye ko umwana wanjye, aja mu mubare w’ abazakorerwaho ubushakashatsi.

Umukono



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNANDEZ
Centro de Cooperación al Desarrollo y Voluntariado
Edificio “La Galia”
Avda. de la Universidad, s/n – 03202 ELCHE
Telf.: 96 665 86 83 Fax: 96 665 8837

ANEXO 3.-



A quién corresponda.

MARIANO PÉREZ ARROYO, Profesor Titular del Departamento de Fisiología y Director del Centro de Cooperación al Desarrollo y Voluntariado de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

INFORMA que,

MARÍA JOSÉ IRISARRI GUTIÉRREZ, con DNI: 02577002-J, ha participado activamente, en el proyecto que se cita a continuación y en el que he sido investigador principal. La citada investigadora, ha tenido una activa participación tanto, en la ejecución de las actividades programadas, como en el análisis de datos, discusión de resultados y elaboración del informe final.

Título del proyecto: *“Centro de prevención y control de enfermedades infecciosas y parasitarias con especial proyección en la patología dermatológica, en la población infantil del sector Nemba, distrito Gakenke, Rwanda”*. (Ref. 3055/2009).

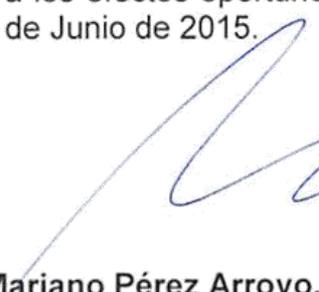
Administración financiadora: Conselleria de Inmigración y Ciudadanía, Comunidad Valenciana.

Entidades participantes: Universidad Miguel Hernández de Elche (Alicante), Universidad de Valencia y Hospital de Nemba, Gakenke, Ruanda.

Duración: 2009-2012

Además, estuvo realizando trabajo de campo, en el Hospital de Nemba, distrito de Gakenke, Provincia Norte, Ruanda, en el periodo comprendido entre los días 15 de agosto a 24 de septiembre de 2011. María José demostró una perfecta adaptación al medio y una gran capacidad para el trabajo en equipo,

Y para que así conste y a los efectos oportunos, expido el presente certificado en Elche (Alicante) a día 20 de Junio de 2015.


Mariano Pérez Arroyo, M.D., Ph.D.
 Director del Centro de Cooperación y Voluntariado UMH



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ
 Centro de Cooperación al Desarrollo y Voluntariado
 Edificio Rectorado y Consejo Social
 Avda. de la Universidad, s/n – 03202 ELCHE
 Telf.: 96 665 86 83 Fax: 96 665 8837

Hookworm-like eggs in children's faecal samples from a rural area of Rwanda.

María José Irisarri-Gutiérrez¹, Carla Muñoz-Antolí¹, Lucrecia Acosta²⁻³, Lucy Anne Parker⁴,
Rafael Toledo¹, Fernando Jorge Bornay-Llinares², José Guillermo Esteban¹

1. Área de Parasitología del Departament de Biologia Cel.lular i Parasitologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de València, Valencia, Spain.
2. Área de Parasitología del Departamento de Agroquímica y Medioambiente, Facultad de Farmacia, Universidad Miguel Hernández de Elche, Alicante, Spain.
3. Laboratorio de Análisis Clínicos, Sanatorio "Fontilles", Vall de Laguar, Alicante, Spain.
4. Departamento de Salud Pública Historia de la Ciencia y Ginecología, Universidad Miguel Hernández de Elche, Alicante, Spain.

Abstract

Background: Hookworm eggs identification and quantification is usually carried out by Kato-Katz method. However various structures present in the smear may be confused with eggs of such parasites.

Objective: To document the presence of structures in Kato-Katz slides that could initially be misinterpreted as hookworm eggs.

Method: 497 faecal samples were analysed by Kato-Katz technique, diphasic concentration technique, agar-plate coproculture and larvae obtained were analysed by PCR and characterized by sequencing.

Result: Hookworm-like eggs were found in 159 (32%) of the samples by Kato-Katz, finally identified as *Caenorhabditis elegans* by PCR technique.

Conclusion: The diagnosis of human hookworm eggs, only by the use of Kato-Katz technique can lead to false positives because of similarities with eggs of other free-living worms, from wet soils like those of Rwanda that could contaminate stool samples.

Keywords: Hookworm eggs, Kato-Katz method, misclassification, Rwanda.

DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ahs.v16i1.11>

Cite as: *Irisarri-Gutiérrez MJ, Muñoz-Antolí C, Acosta L, Parker LA, Toledo R, Bornay-Llinares FJ, Esteban JG. Hookworm-like eggs in children's faecal samples from a rural area of Rwanda. Afri Health Sci. 2016;16(1): 83-88. <http://dx.doi.org/10.4314/ahs.v16i1.11>*

Introduction

Soil Transmitted Helminths (STH) infect more than 1 billion people worldwide and is an enormous problem of public health in tropical countries¹. A national survey in Rwanda gave data of 66% prevalence of STH, being hookworm infection of about 31%².

One of the most commonly stool examination techniques applied for detection of STH ova in stools is

the Kato-Katz technique³⁻⁵ because of its easy use in the field, its low cost and its non-invasive nature. For those reasons, the Kato-Katz technique is the method of choice in parasitological surveys^{6,7}. However, for the detection of hookworms this technique has a relatively poor sensitivity⁵, this may occur, because of the rapid clearing of hookworm eggs with time^{5,8}. A long period from ejection of faeces until the preparation of slides, together with the time from Kato-Katz preparation until the beginning of the microscope examination, makes this technique less sensitive⁴. In addition, another problem is the similar shape of hookworm eggs with other structures, diverse in nature, which may lead to erroneous diagnoses.

The purpose of this report was to document the presence of eggs in Kato-Katz slides that could initially be misinterpreted as hookworm eggs.

Methods

Samples: In this cross-sectional study a total of 497 faecal samples from a population of children (aged be-

Corresponding author:

María José Irisarri Gutiérrez,
Departament de Biologia Cel.lular i Parasitologia,
Facultat de Farmàcia,
Av. Vicent Andrés Estellés, s/n
46100, Burjassot, Valencia, Spain
Tel +34 963543149
Fax +34 96354476
Email: maria.jose.irisarri@uv.es

tween 6 and 18 years old; mean: 11.0; SD: 2.32) from the rural area of Nemba Sector, that it is placed in the Ga-kenke District (located at an altitude between 1.700 and 2.700 meters), on the Northern Province of Rwanda, were collected during the dry season between August and September of 2011. For the samples collection, children were instructed to place the sample directly on the plastic collection tube. Samples were analysed by a) diphasic concentration technique, to know the en-tire parasite spectrum⁶; b) Kato-Katz technique for the identification and quantification of eggs of helminths⁹, and c) by agar-plate coproculture for the detection and identification of STH species with free-living larvae¹⁰. Considering that eggs of different hookworm species are difficult to distinguish and can be confused with those of hookworm-like species, to avoid this, proper identification can be made after hatching the eggs and cultivating larvae¹¹.

Ethics statement: Written informed consent was obtained from each parent or tutor before sampling. The research protocol was reviewed and approved by the local authorities and by the bioethics committee of the University Miguel Hernández de Elche, Alicante, Spain (record num: DF-MPA-001-11).

Molecular characterization: DNA extraction was done from the pellet obtained after centrifugation of larvae culture preserved in ethanol 70% (6.000 rpm in a

bench top microcentrifuge for 10 minutes) after washing with PBS 1% twice. DNA extractions were done with the commercial kit QIAamp DNA Mini Kit (Quia-gen®, Barcelona, Spain) following the manufacturer's instructions. Finally, the DNA were eluted in 50 µl of elution buffer provided with the kit. PCR were done with oligonucleotide primers NC1 and NC2 designed to regions of the 5.8S and 28S respectively, to ampli-fying a 450-580 bp region that found to be conserved across some helminthes groups¹². Direct sequencing of the PCR products was performed with NC1 and NC2 primers using the Big-Dye Terminator Cycle Se-quencing Ready Reaction Kit V3.1 and the automated sequencer "3730 DNA analyzer" (Applied Biosystems, Foster City, CA). Sequences obtained were analyzed and edited using MEGA 6 software (Molecular Evolution-ary Genetic Analysis)¹³ and compared to GenBank® database (U.S. National Library of Medicine, Bethesda, USA).

Results

In the 497 faecal samples analyzed by Kato-Katz, in 159 samples (32%; IC95%: 0.2-0.3) we found the presence of eggs that were similar to those of hookworm (Figure 1A), named as hookworm-like eggs (Figure 1B and 1C). A total of 82 (51.1%; IC95%: 43.5-59.5) were from males and 77 (48.4%; IC95%: 40.4-56.4) were from females, mostly belonging to children who aged 9 years old (16.4%; IC95%: 10.9-23.0).



Figure 1. Hookworm egg in Kato-Katz technique (x400) (A); Hookworm-like egg in Kato-Katz slide (x400) (B), Hookworm-like eggs in Kato-Katz slide (x100) (C).

Applying the diphasic concentration technique in the 159 samples with hookworm-like eggs, only 2 samples (1.2%; IC95%: 0.1-4.4) presented the typical oval round

ends of hookworm egg, with a range of size of 62.5 to 67.2 µm x 40 to 42.5 µm (average size: 65.0x 41.6 µm) (Figure 2A).



Figure 2. Hookworm egg (Diphasic concentration technique x 400) (A); Hookworm-like egg (Diphasic concentration technique x 400) (B).

In the remaining 157 samples (98.7%; IC95%: 95.5-99.8), hookworm-like eggs with a slightly concave side and with range of size of 85.0 to 92.5 μm x 35.0 to 40.0

μm (average size: 89.1 x 36.8 μm) were observed (Figure 2B). Moreover, female adult worms were also observed in two of those 157 samples (Figure 3).



Figure 3. Adult worms of *C. elegans* (Diphasic concentration technique x 100)

Comparing the results obtained by both techniques, and considering the diphasic concentration technique more precise than the Kato-Katz, the specificity (68%), sensitivity (100%) and positive (1.3%) and negative (100%) predictive values intended for Kato-Katz, revealed its

limitations in the correct identification of hookworm eggs.

Finally, sequence of the 500bp band obtained by PCR, from the larvae of the 159 Kato-Katz positive-samples agar-plate culture (Figure 4), matched with *Caenorhabditis elegans*, a free-living nematode.

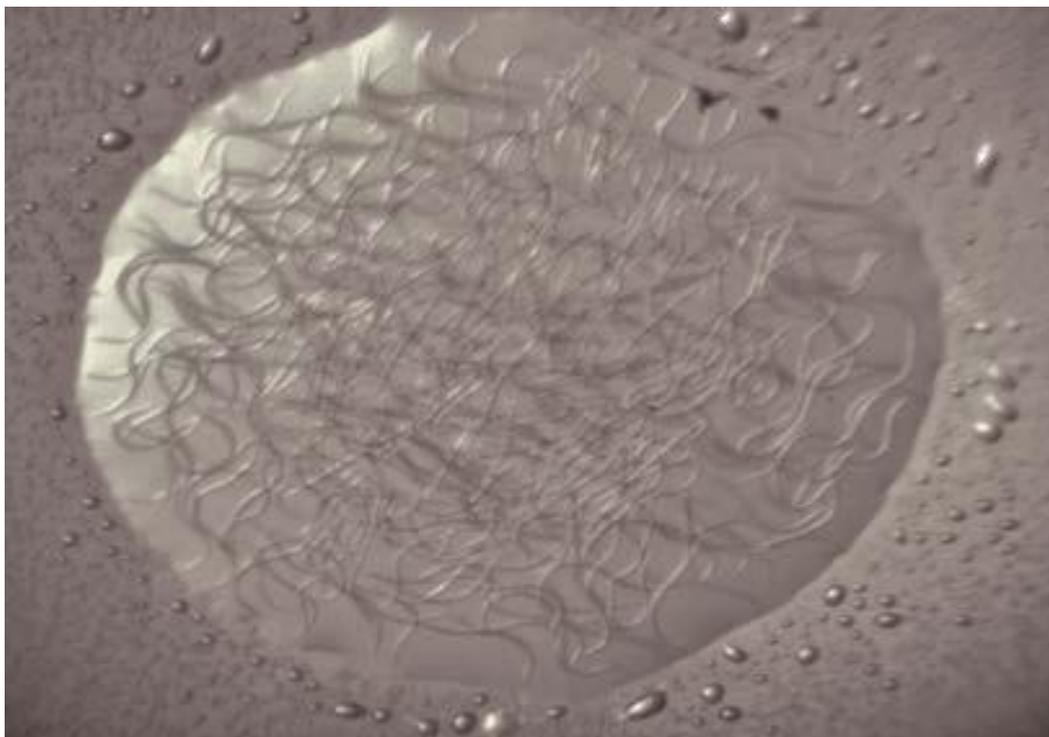


Figure 4. Larvae of *C. elegans* in water drop from the coproculture (vision through electronic loupe)

Discussion

A brief review of other studies showed frequent problems in the identification of hookworm eggs by microscopy. It is often reported as misdiagnosis of hookworm eggs with other nematode species. Some researchers¹⁴⁻¹⁷ have found eggs that initially were classified as hookworm eggs, but with further analysis it was proved that these eggs were of *Trichostrongylus* spp. Other studies^{15,18} also affirm that confusion between hookworms eggs and *Oseophagostum bifurcum* it is possible because of similarity of eggs, because of that, a study¹⁹ used a multiplex real-time PCR to achieve the accurate distinction between hookworms and *O. bifurcum*. In addition, another study¹⁵ affirms that hookworm eggs can also be confused with *Ternidens deminutus* eggs. Also happens that eggs similar to those of hookworms could be from plant parasitic nematode eggs, as it is the case of *Meloidogyne* spp.²⁰ and *Heterodera* spp.^{15,21-23} Finally, confusion may also occur with mite eggs^{15,23,24} and even artefacts such as plant cells^{22,23}.

In the present work, it was observed that eggs of the free-living nematode *C. elegans*, which can be found in humus, compost heaps, garden soil, flowers and fruits who have fallen on the ground²⁵, can lead to a misclassification with hookworm eggs mainly by Kato-Katz.

The limitations found in this Kato-Katz technique in the correct identification of hookworm eggs, highlight the use of several diagnostic techniques, as can be the diphasic concentration and/or PCR, in order to perform an adequate diagnosis of hookworm.

Since the stool samples studied in the present work proceeds from northern Rwanda, a rural tropical area, it is important to keep in mind the high incidence of *Caenorhabditis* species in these wet tropical areas²⁶.

Conclusion

The diagnosis of human hookworm eggs only by the use of Kato-Katz technique, can lead to the occurrence of false positive results, due to similarity with those of other free-living worms that may be present in the stools. Because of this, to give appropriate instructions for a correct stool sample collection, without any contact with soil, land, animal faeces, etc., it is extremely important. Moreover, the use of several diagnostic techniques, to achieve a correct diagnosis of hookworm species, results evident.

Our results, together with the brief bibliographic review, emphasize the importance not only of the correct identification of the structures found in faecal samples, but also the importance of avoiding sample contamination.

tion from soil material, even when people were instructed correctly about how to proceed with the collection of the samples.

References

1. Brooker S, Clements ACA, Bundy DAP. Global epidemiology, ecology and control of soil-transmitted helminth infections. *Advances in Parasitology* 2006; 62: 221-261.
2. Staudacher O, Heimer J, Steiner F, et al. Soil-transmitted helminths in southern highland Rwanda: associated factors and effectiveness of school-based preventive chemotherapy. *Tropical Medicine and International Health* 2014; 19 (7):812-824.
3. Goodman D, Haji HJ, Bickle QD, et al. A Comparison of methods for detecting the eggs of *Ascaris*, *Trichuris*, and Hookworm in infant stool, and the epidemiology of infection in Zanzibari infants. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2007; 76 (4): 725-731.
4. Knopp S, Mgeni AF, Khamis IS, et al. Diagnosis of soil-transmitted helminths in the era of preventive chemotherapy: effect of multiple stool sampling and use of different diagnostic techniques. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2008; 2 (11): e331.
5. Tarafder MR, Carabin H, Joseph L, Balolong E, Olveda R, McGarvey ST. Estimating the sensitivity and specificity of Kato-Katz stool examination technique for detection of hookworms, *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infections in humans in the absence of a 'gold standard'. *International Journal for Parasitology* 2010; 40 (4): 399-404.
6. World Health Organization (WHO): Bench aids for the diagnosis of intestinal parasites, 1994.
7. Montresor A, Crompton DWT, Hall A, Bundy DAP, Savioli LA. Guidelines for the evaluation of soil-transmitted helminthiasis and schistosomiasis at community level. Geneva: World Health Organization 1998; pp.1- 48
8. Dacombe RJ, Crampin AC, Floyd S, et al. Time delays between patient and laboratory selectively affect accuracy of helminth diagnosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2007; 101 (2):140-145.
9. Kato K, Miura M. Comparative examinations. *Japanese Journal of Parasitology* 1954; 3 (5).
10. Arakaki T, Iwanga M, Kinjo F, Saito A, Asato R, Ikeshiro T. Efficacy of agar-plate culture in detection of *Strongyloides stercoralis* infection. *The Journal of Parasitology* 1990; 76: 425-428.
11. Jozefzoon LM, Oostburg BF. Detection of hook-worm and hookworm-like larvae in human fecocultures in Suriname. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1994; 4: 501-505.
12. Gasser RB, Chilton NB, Hoste H, Beveridge I. Rapid sequencing of rDNA from single worms and eggs of parasitic helminths. *Nucleic Acids Research* 1993; 21 (10): 2525-2526.
13. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and Evolution* 2013; 30 (12):2725-2729.
14. Ralph A, O'Sullivan MVN, Sangster NC, Walker JC. Abdominal pain and eosinophilia in suburban goat keepers—trichostrongylosis. *Medical Journal of Australia* 2006; 184 (9): 467-469.
15. Thibert JB, Guiguen C, Gangneux JP. Diagnostic microscopique différentiel des oeufs de type *Ankylostomidae*: à propos d'un cas de *Trichostrongyloïdose*. *Annales de Biologie Clinique* 2006; 64 (3): 281-285.
16. Yong TS, Lee JH, Sim S, et al. Differential diagnosis of *Trichostrongylus* and Hookworm eggs via PCR using ITS-1 sequence. *The Korean Journal of Parasitology* 2007; 45 (1): 69-74.
17. Bradbury RS, Males C, Goldmisd JM. An unusual helminth infection in a South

- East Asian refugee. *Annals of the Australasian College of Tropical Medicine* 2010; 11 (1): 16-18.
18. Goldsmid JM. The differentiation of *Ternidens deminutus* and hookworm ova in human infections. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 1968; 62 (1):109-116.
 19. Verweij JJ, Brienen EAT, Ziem J, Yelifari L, Pol-derman AM, Van Lieshout L. Simultaneous detection and quantification of *Ancylostoma Duodenale*, *Necator Americanus*, and *Oesophagostomum bifurcum* in fecal samples using multiplex Real-Time PCR. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2007; 77 (4): Cantos GA, Dutra RL, Benedet NS. Estudo de ovos de *Meloidogyne* Spp em fezes humanas. *News Lab* 2004; 65: 132-36.
 20. Sandground JH. *Oxyuris incognita* Or *Heterodera radicola*? *The Journal of Parasitology* 1923; 10 (2): 92-94.
 21. Colmer-Hamood JA. Fecal microscopy artifacts mimicking ova and parasites. *Lab Medicine* 2001; 32 (2): 80-84.
 22. Ash LR, Orihel TC. Atlas de Parasitología Humana. 5th ed. Editorial Médica Panamericana, Argentina 2010.
 23. Werneck JS, Carniato T, Gabriel A, Tufik S, Andrade SS. Mites in clinical stool specimens: potential misidentification as helminth eggs. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2007; 101 (11): 1154-1156.
 24. Barrière A, Félix MA. Isolation of *C. elegans* and related nematodes. WormBook: The Online Review of *C. elegans* Biology (2014). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK19764/>. Accessed August 2014.
 25. Félix MA, Jovelín R, Ferrari C, et al. Species richness, distribution and genetic diversity of *Caenorhabditis* nematodes in a remote tropical rainforest. *BMC Evolutionary Biology* 2013; 13: 10. 685- 690.