

UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS

“Determinación de Linfocitos B en niños de 6-12 años Infeccionados por
Giardia lamblia” de tres diferentes escuelas en Hermosillo Sonora
México



TESIS PROFESIONAL
Que para obtener el Título de:
QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

Presenta:

Nicolás Arcos Juárez

Hermosillo, Sonora

Septiembre 2012

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



“El saber de mis hijos
hará mi grandeza”



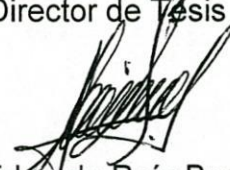
Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del jurado calificador designados para revisar la Tesis Profesional de **Nicolás Arcos Juárez**, la han encontrado satisfactorio y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el Título de Químico-Biólogo con especialidad en Análisis Clínicos.


Dra. Adriana Garibay Escobar


Director de Tesis


Dr. Eduardo Ruíz Bustos

Vocal


MC. José Rogelio Ramos Enríquez

Secretario


MC. Rosa Estela Fraga Serrano

Suplente

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la gran oportunidad que me dio de crecer en la vida y superarme profesionalmente. Porque a pesar de los momentos difíciles donde los tropiezos eran grandes, siempre estuvo ahí para alentarme y ayudarme a seguir.

A mis padres por haber confiado en mí y a pesar de estar separados por una gran distancia, estuvieron siempre al pendiente de mis logros y mis derrotas. Pidiéndole a Dios por el éxito de mis objetivos en la vida y fortaleciendo mis ganas de crecer con cada mensaje y llamada recibida de ellos.

A mis maestros por haber aportado de su valioso tiempo en mi educación durante el tiempo que estuve en el campus de la Universidad. Su paciencia para enseñarnos de la mejor manera la tendré siempre en mente.

A mi directora de tesis porque a pesar de tener muchas ocupaciones en su trabajo, siempre estuvo a la disposición de apoyarme y resolver las dudas que tuve. La paciencia y el empeño de querer siempre enseñarme cosas nuevas, se lo agradezco de todo corazón.

A Adriana Santelíz por su apoyo incondicional en la resolución de algunas dudas. La gran disposición de su parte para conmigo y la paciencia, deja en un servidor la lección de siempre apoyar al que lo necesita sin pensar. Muchísimas gracias Adriana.

Sin duda a Todos los que influyeron de alguna manera para que ésta tesis fuera realizada de antemano mil gracias.

CONTENIDO

	Página
FORMA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
CONTENIDO	IV
LISTA DE TABLAS	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
OBJETIVOS	VIII
Objeto General	VIII
Objetivos Particulares	VIII
RESUMEN	IX
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	3
Giardiasis	4
<i>Giardia lamblia</i>	6
Aspectos Biológicos	8
Trofozoito	10
Quiste	12
Ciclo Biológico	12
Patogénesis	16
Factores que Predisponen a una Giardiasis	19
Mecanismos de Defensa contra <i>Giardia lamblia</i>	20
Inmunidad Innata	20
Inmunidad Adaptativa	23
MATERIALES Y MÉTODOS	28
Sujetos de Estudio	28
Sujetos Sanos	28
Sujetos Parasitados	28
Muestras Biológicas Utilizadas en el Estudio	30
Sangre Total	30

	Página
Muestras de Heces Fecales	30
Examen Coproparasitoscópico (Método de Faust)	30
Citometría de Flujo	31
Tinción	31
Adquisición y Análisis de la Población de Linfocitos B	31
Biometría Hemática	33
RESULTADOS	34
DISCUSIÓN	40
CONCLUSIONES	44
RECOMENDACIONES	45
BIBLIOGRAFÍA	46
ANEXOS	51

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Casos de amebiasis y giardiasis en algunas entidades federativas hasta la semana epidemiológica 21 del 2011.	7
2. Taxonomía de <i>Giardia lamblia</i> .	9
3. Grupos utilizados en el análisis	29
4. Medidas y desviaciones estándar de los grupos de estudio	35

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Seroprevalencia de <i>Giardia lamblia</i> en México basado en la clasificación regional de desarrollo económico.	5
2. Trofozoito de <i>Giardia lamblia</i> .	11
3. Quiste de <i>Giardia lamblia</i> .	13
4. Ciclo de vida de <i>Giardia lamblia</i> .	14
5. A) Linfocitos totales definidos por categoría, B) Grafico de puntos con la población CD19+ definida en una ventana, C) Histograma de intensidad de fluorescencia para FIC (CD19+) vs número de células.	32
6. Análisis del porcentaje (A) y valores absolutos (B) de linfocitos B en el grupo 1 parasitado con <i>Giardia lamblia</i> .	37
7. Análisis del porcentaje (A) y valores absolutos (B) de linfocitos B en el grupo 2 parasitado con <i>Giardia lamblia</i> y otros parásitos	38
8. Análisis del porcentaje (A) y valores absolutos (B) de linfocitos B en el grupo 3 parasitado con <i>Endolimax nana</i>	39

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la población de linfocitos B en niños de 6 a 12 años infectados con *Giardia lamblia* de tres diferentes escuelas en el municipio de Hermosillo Sonora.

Objetivos Particulares

- 1.- Determinar mediante un examen coproparasitológico la presencia de *G. lamblia* en la población de estudio.
- 2.- Evaluar por citometría de flujo la población de linfocitos B.
- 3.- Determinar los valores absolutos de linfocitos B.
- 4.- Establecer la relación entre linfocitos B y el diagnóstico de la giardiasis.

RESUMEN

Desde que Anton Van Leeuwenhoek descubriera a *Giardia lamblia* en los análisis realizados en sus heces, se ha catalogado a éste parásito como un causante de diarrea, originando una enfermedad llamada giardiasis o conocida como diarrea del viajero.

Los síntomas que podrían presentarse en ésta parasitosis van desde un dolor de estómago, diarrea, pérdida de peso y hasta mala absorción. Al nivel mundial se generan 2.8×10^8 casos por año, y en México más del 50% de las enfermedades parasitarias son causadas por *Giardia lamblia*, siendo los menores de 5 años la población más afectada.

La respuesta inmunológica humoral en la eliminación de la giardiasis es importante, ya que los linfocitos B colaboran con otras células en la eliminación de la enfermedad. Su transformación a célula plasmática para la generación de inmunoglobulinas de la clase IgA es un potencial neutralizador de la infección, pone de manifiesto la importancia de tal estirpe celular en la protección contra dicha parasitosis, esto principalmente en niños.

En el presente trabajo se realizó una medición de los linfocitos B por citometría de flujo en niños parasitados con *G. lamblia* y se comparó con la de niños no parasitados.

Los resultados mostraron diferencia significativa con respecto al control de acuerdo al análisis por el Método de U-Mann Whinhey versión 20.0 utilizando datos de valores absolutos ($P= 0.019$) en el nivel de linfocitos B (CD19+) entre los niños parasitados con *G. lamblia* únicamente. Sin embargo, el análisis para dato porcentual muestra una tendencia de cambio estadístico.

Para próximos estudios, la búsqueda de la activación en células B por ésta infección, realizando una comparación de sintomáticos y no sintomáticos es recomendada. Además, aumentar el número de sujetos podría ayudar en la claridad estadística del estudio.

INTRODUCCIÓN

Giardia lamblia es el parásito causante de la giardiasis, enfermedad que se presenta generalmente en niños menores de 5 años, aunque también es conocida como diarrea del viajero. Los síntomas que suelen presentarse son: dolor de estómago, diarrea, vómito, pérdida de peso y mala absorción, éstos podrían no presentarse, razón por la que el hospedero no acude a una consulta médica (Caccio y Ryan, 2008; Faulkner y cols., 2003).

La enfermedad parasitaria puede adquirirse con el consumo de quistes de diferentes fuentes como alimentos y agua contaminada, además se ha visto que también la práctica de sexo anolinguo por los homosexuales es una fuente de contaminación. Después de ingerir los quistes, el tiempo de colonización puede durar desde 7 hasta 12 días. En poblaciones en vías de desarrollo como Asia, África y Latinoamérica cerca de 200 millones de personas tienen giardiasis sintomática y 500 mil casos se reportan cada año (Cacció y Ryan, 2008). En México, la giardiasis es una de las parasitosis más comunes, los reportes de prevalencia varían del 3% al 50% y sin lugar a duda la población con más afectación son los niños menores de 5 años (Cedillo-Rivera y col., 2009).

Algunos de los mecanismos físicos que la región de las mucosas utiliza para la eliminación de microorganismos extraños son en cierta forma inespecíficos y compartidos, ya que el movimiento peristáltico, la generación de moco por las células caliciformes y la función de las sales biliares son una forma de defensa aunque de inicio no sea su actividad principal. Otros mecanismos pueden ser mucho más específicos, en los que la generación de respuestas humorales y celulares puede tener gran importancia en la eliminación de la enfermedad (Eckmann, 2003).

Aunque *G. lamblia* no se ha visto infiltrando la mucosa, existen algunos datos que indican que se aloja en las criptas y causa daño de los enterocitos además de una probable infiltración. Tal daño inicialmente es en principio por medios de mecanismos sencillos, tales como la formación de una barrera mecánica que obstruye el paso de las moléculas que las microvellosidades de los enterocitos necesitan absorber para nutrir al hospedero (Saki, 2011; Eckmann, 2003).

La participación de los linfocitos B es de gran importancia para una resolución inmediata de la giardiasis, ya que se ha visto que a pesar de ser independiente de una colaboración de otras células como linfocitos T, ayuda de forma sinérgica en la solución del problema. Citocinas como la IL-6 contribuyen a que los linfocitos B puedan transformarse a células plasmáticas y generar la producción de inmunoglobulinas, especialmente IgA, clase de inmunoglobulina involucrada en la defensa de las mucosas (Langford, 2002; Stager, 1997; Amorim, 2010).

Puesto que existe una gran cantidad de información sobre la importancia de los linfocitos B en la eliminación de la giardiasis en roedores, se ha buscado la forma de generar una vacuna para promover una respuesta de linfocitos B protectora. Sin embargo, respecto al dato de las células B en humanos es poca la literatura encontrada sobre todo en poblaciones infantiles.

Es por ello que una evaluación de linfocitos B en niños de edad preescolar apoyaría sustancialmente en el conocimiento de su importancia en la parasitosis por *G. lamblia*.

ANTECEDENTES

Desde el descubrimiento de los pequeños microorganismos, con lentes rudimentarios realizados por Anton Van Leewenhoek, se ha buscado mejorar la investigación de lo desconocido (Vázquez y Campos, 2009).

Durante mucho tiempo el conocimiento de los protozoos fue desconocido, pero gracias a la inquietud de grandes microscopistas como Van Leewenhoek se ha llegado al conocimiento de los protozoos que hoy conocemos como parásitos, causantes de una gran variedad de enfermedades a nivel mundial.

Dentro de los parásitos patógenos que más problemas de salud ocasionan a la sociedad se encuentran: *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Blastocystis hominis*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis* entre otros. En el caso de los helmintos tenemos a *Hymenolepis nana*, *Trichuris trichuria*, *Ascaris lumbricoide* y *Enterobius vermicularis*. La prevalencia de estos parásitos podría variar dependiendo de la ubicación geográfica y la condición económica, tal como lo señala el estudio realizado a 272 niños en edad de 2 a 14 años en México de 1997 a 1998 (Díaz, 2003).

Las enfermedades causadas por los parásitos patógenos están asociadas a diarrea crónica. *Giardia intestinalis* (*Giardia lamblia*) es uno de los parásitos que prevalecen a nivel mundial como causantes de enfermedades diarreicas. La amebiasis es la primera causa de muerte por enfermedades parasitarias en el mundo, con un gran impacto en continentes desarrollados donde causa de 40 a 100 muertes anuales. La cryptosporidiosis viene a ser común en continentes en vías de desarrollo y más que nada en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y niños menores de 5 años (Rashidul, 2007).

En países en vías de desarrollo la frecuencia de casos con una parasitosis es mucho más común, aunque muchas veces las personas no acuden al hospital, porque es posible que la presencia de parásito no ocasione síntomas. Algunos de

éstos parásitos por lo general suelen identificarse como no patógenos, esto es, que al estar presentes en la región intestinal no ocasionan síntoma alguno de daño al hospedero. Dentro de éstos se puede mencionar a los siguientes: *Endolimax nana*, *Iodamoeba bushni*, *Entamoeba coli*, entre otros.

Giardiasis

La giardiasis es una enfermedad parasitaria causada por un parásito protozoo conocido como *Giardia lamblia*, que se aloja en el intestino delgado de su hospedero; éste es una causa muy común de enfermedad diarreica en una gran variedad de especies incluyendo al humano. La forma en cómo este protozoo ingresa al organismo es por medio del consumo de quistes en agua o alimentos contaminados. La población que se ve más afectada son los niños menores de 5 años y adultos mayores, además de las personas que viajan; es por ello que también se les conoce a ésta parasitosis como diarrea del viajero.

La distribución global de *G. lamblia* ocasiona 2.8×10^8 casos por año, siendo una de las parasitosis intestinales más comunes en países en vías de desarrollo como Asia, África y América Latina, donde 200 millones de individuos se presentan cursando con una giardiasis sintomática y se presentan 500 mil casos nuevos cada año (Cacciò y Una-Ryan, 2008).

En ciudades como Bangladesh, Nigeria, Perú y Guatemala se reportan altos índices endémicos. En el caso de México, puede llegar hasta un 50%; De los cuales los niños de 1 a 5 años de edad presentan particularmente un alta prevalencia de hasta el 42% (Cedillo-Rivera y col., 2009). Estos datos fueron el resultado de un estudio de 3 461 muestras de 32 estados obtenidas del Banco Nacional de Suero del Ministerio de Salud en México, con una edad poblacional de 1 a 98 años en cada Estado y de diferente nivel socioeconómico (figura 1).

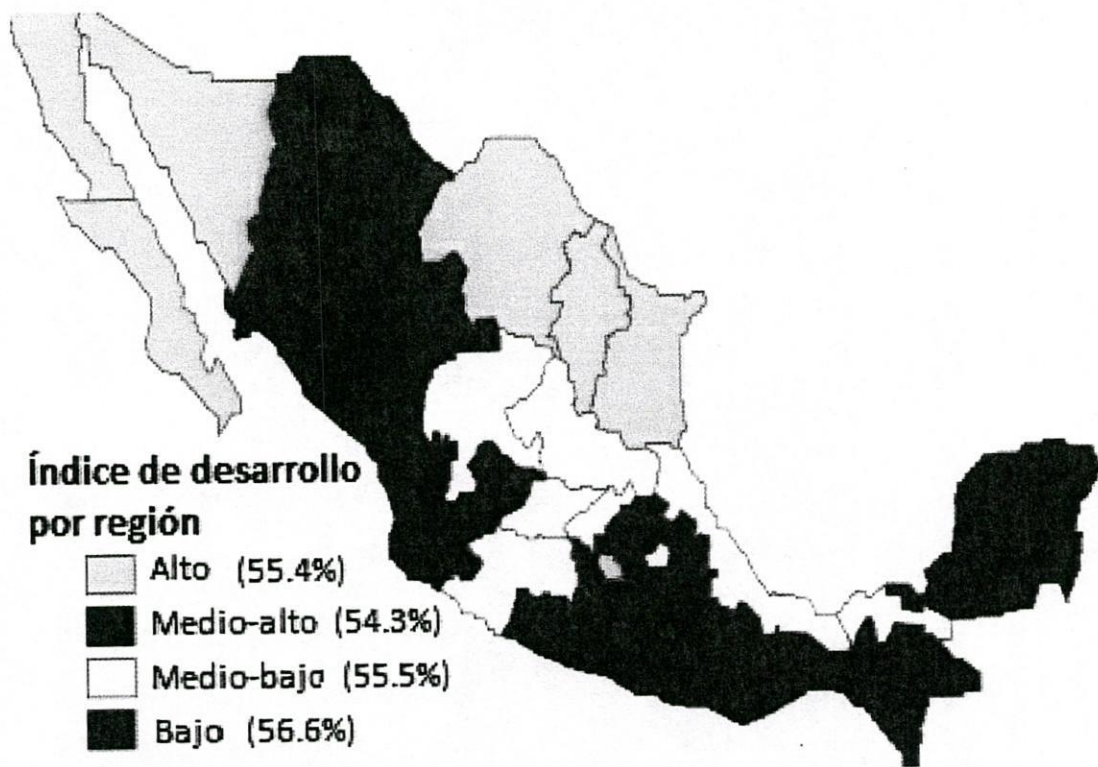


Figura 1. Seroprevalencia de *G. lamblia* en México basado en la clasificación regional de desarrollo económico (Cedillo-Rivera, 2009).

Recientes aportaciones del Centro Epidemiológico Nacional, muestran información hasta la semana 21 del 2011 (tabla 1), la cual refleja que México, por tener una gran variedad de sistemas climáticos y ser un país en vía de desarrollo, puede albergar una gran cantidad de enfermedades como la amebiasis y la giardiasis, entre otras, causadas por diferentes especies de parásitos.

Giardia lamblia

Giardia lamblia es un organismo que exhibe una organización intracelular muy simple, sin mitocondrias ni peroxisomas, en una peculiar estructura bilobular. En la última década se ha convertido en uno de los protozoos más estudiados por la capacidad que tiene de parasitar numerosas especies, incluyendo a mamíferos como el humano.

De acuerdo a la gran investigación realizada en el análisis filogenético del ácido ribonucleico ribosomal (ARNr), se ha podido determinar que éste organismo en su clasificación es eucariótico en una forma muy primitiva, la cual surgió poco después de una divergencia entre procariontes y eucariontes, antes de que éste último adquiriera mitocondrias (Rodney, 2001).

A través de un microscopio rústico elaborado por un microscopista holandés de la ciudad de Delfin, llamado Anthony Van Leewuenhoek, fué como se cree empezaron los primeros conocimientos de éste microorganismo. Los dibujos realizados por éste investigador, al observar en sus heces diarreicas a lo que él llamaba "animalucos", indican que se trataba de *G. lamblia*. Ésta información se enriqueció con la descripción de la sintomatología de la enfermedad. Tales resultados fueron enviados y resguardados celosamente por la Royal Society of London el 4 de noviembre de 1681 (Vázquez y Campos, 2009).

En 1859 un médico Checo llamado Wilhelm Lambl describió con gran detalle al organismo visto por Van Leewuenhoek, y lo consideró parte del género *Cercomonas* y es así como él lo nombró *Cercomonas intestinalis*.

Tabla 1. Casos de amebiasis y giardiasis en algunas entidades federativas hasta la semana epidemiológica 21 del 2011 (SINAVE, 2011).

Entidad Federativa	Amebiasis	Total	Entidad Federativa	Giardiasis	Total
	M / F			M / F	
México	7585 / 9997	17582	Sinaloa	314 / 394	708
Chiapas	6102 / 8582	14684	Veracruz	326 / 324	650
Guerrero	6550 / 7782	14332	Chiapas	254 / 346	600
Oaxaca	5992 / 8267	14259	Distrito Federal	245 / 354	599
Veracruz	5985 / 7656	13641	México	250 / 338	588
Tabasco	3561 / 4066	7627	Yucatán	286 / 265	551
Distrito Federal	2668 / 3693	6361	San Luis Potosí	142 / 267	409
Jalisco	2866 / 3363	6229	Oaxaca	165 / 211	376
Yucatán	2642 / 3068	5710	Jalisco	151 / 150	301
Sinaloa	2304 / 3291	5595	Tamaulipas	127 / 166	293
San Luis Potosí	1436 / 2047	3483	Guerrero	172 / 95	267
Morelos	1355 / 2009	3364	Sonora	106 / 131	237
Tamaulipas	1238 / 1554	2792	Campeche	123 / 108	231
Campeche	1105 / 1110	2215	Morelos	113 / 99	212
Sonora	749 / 1009	1758	Tabasco	94 / 108	202

Permaneciendo así por algún tiempo hasta que Kofoid y Christiansen propusieran el nombre de *Giardia lamblia* en 1915. Por el año de 1952 Filice elaboró una publicación donde describía detalladamente a éste parásito y propuso tres especies para ser usadas, conforme a la morfología del cuerpo medio; *G. duodenalis*, *G. agilis* y *G. muri*. A pesar de la propuesta dada por Filice, *Giardia lamblia* ha sido utilizada en muchas de las literaturas médicas y científicas hasta el día de hoy (Rodney, 2001). Después de generar controversia entre los investigadores para definir el nombre de especie para los protozoos hallados, y que posteriormente fuera definido el origen al que pertenecían conforme a su hospedero y morfología, se generó gran interés por continuar con el estudio de este parásito. Además, gracias al surgimiento de nuevas herramientas de investigación muchos investigadores se enfocaron a definir la genética de éstos y otros al estudio específico de su patogenicidad (Rodney, 2001, Vázquez y col., 2009) La generación de microscopios de resolución más definida como el electrónico, se llegó al descubrimiento de nuevas especies encontradas en aves tales como *G. ardeae* en garzas y *G. psittaci* en pericos. Recientemente la aplicación de procedimientos como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR: Polimerase Chain Reaction), ha resuelto la disyuntiva de no poder cultivar algunas de las especies encontradas en hospederos y poder de esta forma caracterizar genéticamente muestras tanto ambientales, como las obtenidas de heces fecales de mamíferos (Thompson, 2008).

Aspectos Biológicos

Giardia lamblia es un protozoo eucariótico con sus núcleos y membrana bien definida, cuenta con un citoesqueleto relativamente desarrollado y sistema de endomembranas polifuncionales; sin embargo no posee nucléolos ni peroxisomas como los eucariontes. Su clasificación taxonómica muestra que pertenece a la clase Zoomastogophorea (tabla 2), puesto que posee flagelos con medios de locomoción, además de axostilo, dos núcleos y simetría bilateral.

Tabla 2. Taxonomía de *Giardia lamblia* (Vázquez y col.,2009)

Phylum	Sarcomastigophora
Subphylum	Mastigophora
Clase	Zoomastigophorea
Orden	Diplomanadida
Familia	Hexamitidae
Género	Giardia
Especie	Lambliia

Tomando en cuenta la variación morfológica, la posición de cuerpos mediales, la forma del parásito y la relación del disco suctor con el tamaño total del trofozoito, se ha dividido al género en tres especies: *Giardia agilis* (anfibios), *Giardia muris* (roedores y aves), *Giardia lamblia* (mamíferos como el perro, gato, ganado y el hombre). Dentro de este último la morfología de giardias comunes es indistinguible para muchos mamíferos, por lo que tiene la capacidad natural de adoptar dos formas: trofozoito (forma inmóvil), y quiste (forma infectante) (Vázquez y Campos, 2009).

Trofozoito. Son en forma de pera de aproximadamente 20 μm de longitud y 15 μm de ancho (figura 2). El citoesqueleto incluye un cuerpo mediano, cuatro pares de flagelos (anterior, posterior, caudal y ventral) y un disco ventral. Tiene dos núcleos sin nucléolo localizados delante y son simétricos con respecto al eje largo. Las vacuolas lisosomales, así como gránulos ribosómicos y el glucógeno, se encuentran en el citoplasma. En la membrana citoplasmática se han encontrado un gran número de glicoproteínas de superficie mediante lectinas.

Los complejos mecanismos de hidro-adhesión conferidos por el disco suctor le proporcionan al parásito la posibilidad de adherirse a la mucosa intestinal y como la composición de éste son microtúbulos espirales, reciben a los flagelos que expiden fluidos desde la cavidad, bajo el disco hacia el canal ventral y exterior.

En frotis directo, sobretodo de heces de pacientes de diarreas intensas, es posible la observación del movimiento rápido de los trofozoitos, el cual es resultado de la intensa actividad de los flagelos, éste movimiento y la inflexión que en los trofozoitos produce el disco ventral, los hace fácilmente identificables en preparaciones húmedas con fines diagnósticos (Saleh, 2010).

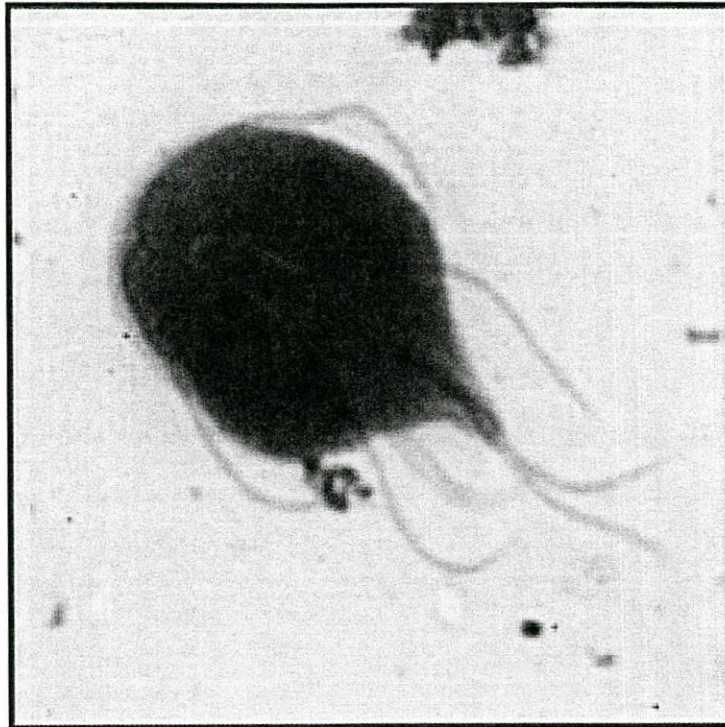


Figura 2. Trofozoito de *Giardia lamblia* (univalle.edu.)

Quiste. Al teñir con lugol parasitológico al quiste de *G. lamblia*, se observa una estructura ovoide incolora que tiene cuatro núcleos. Los núcleos son de 5 a 7 ó 10 μ m de diámetro y están cubiertas por una pared de 0.3 a 0.5 μ m de espesor y compuestas de una capa exterior filamentososa y una capa membranosa interior (figura 3). El componente carbohidrato de la porción exterior es predominantemente galactosamina en forma de N-acetilgalactosamina (GalNAc). La respiración del quiste es estimulada por etanol, mientras que en trofozoitos es la glucosa (Vázquez y Campos, 2009; Rodney, 2001).

En el interior del quiste y en su periferia se aprecia un extenso sistema lacunar, lleno de una sustancia de baja densidad electrónica. También cercana al área nuclear es posible observar axonemas de flagelos, de manera habitual en número de 8. Cuando algunos axonemas están situados alrededor pueden verse como flagelos libres dentro del sistema lacunar del parásito (Vázquez y Campos, 2009).

Ciclo Biológico. La parasitosis conocida como giardiasis tiene sus inicios con la ingestión del parásito *G. lamblia* en su forma infectiva, en una cantidad entre 10 y 100 quistes. Su ciclo de reproducción biológica (figura 4) es sencillo y solo tiene dos fases, la forma de quiste (infectiva) como ya se ha mencionado, y la forma de trofozoito o forma inmóvil.

El mecanismo por el cual un sujeto puede infectarse es variable. Una defecación normal de un paciente con una infección moderada puede presentar hasta 300 mil quistes; esto sin contar que la defecación pudo ser en el suelo y la diseminación de los quistes vía aérea afecta a más de uno. La contaminación puede darse por tener mala higiene ya sea por no lavar las frutas y verduras a la hora de ingerirlos. No lavar las manos antes y después de ir al baño es una más de las formas en donde el humano puede parasitarse. No hay que olvidar que las ciudades en vías de desarrollo son los lugares que tienen mucho mayor grado de presencia parasitaria, siendo uno de los riesgos de contaminación las costumbres higiénicas de estas ciudades.

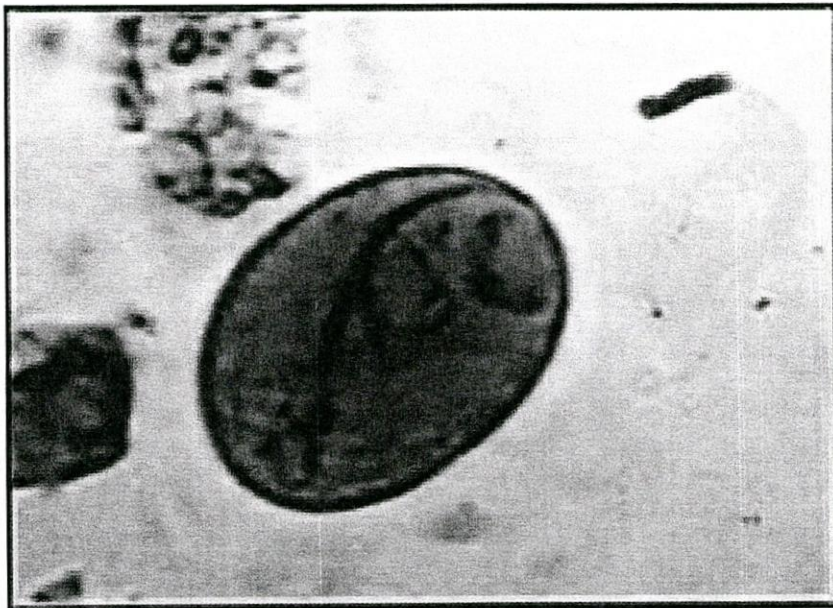


Figura 3. Quiste de *Giardia lamblia* (univalle.edu)

Giardiasis

(*Giardia intestinalis*)

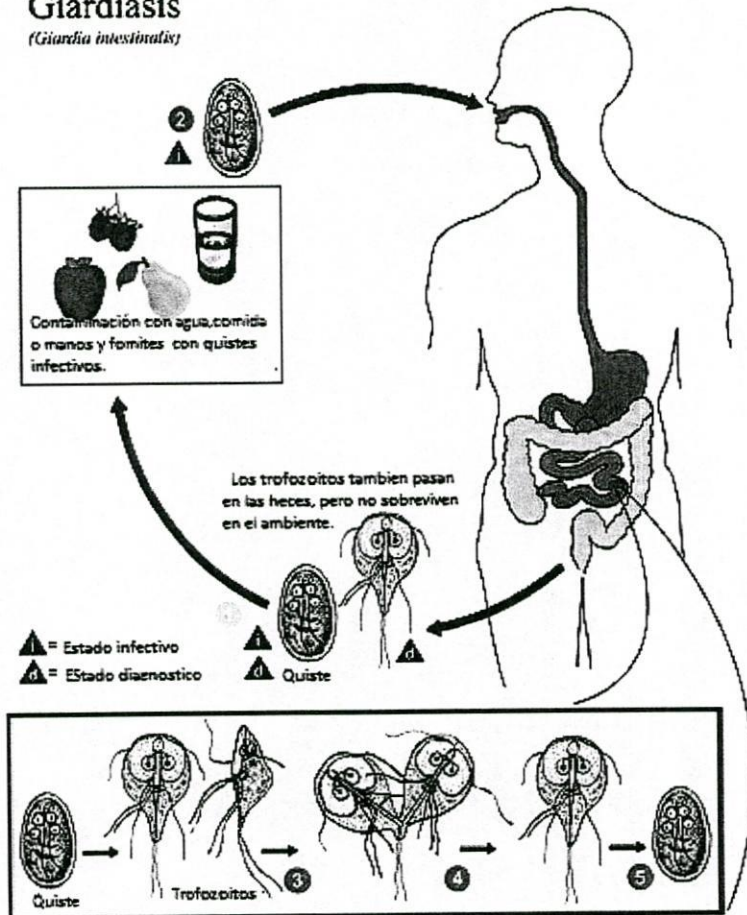


Figura 4. Ciclo de vida de *Giardia lamblia* (www.CDC.gov)

La costumbre de algunas personas de tener animales como mascotas, tales como perros y gatos, y no solo en el patio sino dentro de sus casas, es otra posible fuente de infección, ya que son potenciales reservorios de parásitos que podrían afectar al humano.

Se ha visto que en agua a 21°C, quistes de *G. lamblia* pueden sobrevivir hasta por un mes, y hasta por dos meses en condiciones de 8°C. Sin embargo, estos quistes no pueden resistir temperaturas mayores a 50°C durante 15 minutos, incluso existe una gran resistencia a los desinfectantes que contienen cloro (Brandonisio, 2006).

No hay que olvidar que también el contacto con objetos como juguetes, pasamanos, monedas, incluyendo las prácticas sexuales oro-fecal, las cuales son más comunes en la comunidad homosexual son potenciales fuentes de contaminación. La posibilidad de vectores mecánicos como medios de transmisión es algo que sucede con algunos artrópodos, puesto que se ha demostrado que los quistes de este protozoo, pueden permanecer por varios días en el intestino de cucarachas; y que también son capaces de atravesar el intestino de las moscas sin alteración alguna.

Después de la ingestión de los quistes, éstos sufrirán un cambio al ser recibido por el estómago, conocido como desenquistamiento, donde el pH bajará hasta 2, y ya que sólo soporta entre 6.4 y 7.4 de la acidez gástrica, surge el trofozoito tetranucleado en la parte alta del duodeno dando lugar a dos trofozoitos binucleados. Ahora bien, los trofozoitos ubicados en el duodeno inician una multiplicación por medio de un proceso longitudinal que tras el curso de 7 minutos a 5 horas generan una gran población para establecerse en su hábitat que es el duodeno y yeyuno; aunque en ocasiones es posible encontrarlos en regiones del intestino grueso y vesícula biliar. La fijación de éste por medio de su disco suctor es la clave para el inicio de su replicación, pero en cierta forma se dan desprendimientos de trofozoitos probablemente por el movimiento peristáltico de la zona donde se alojan y nuevamente comienza el enquistamiento. Éste empieza

por la retracción de los flagelos para más tarde ser rodeados en su pared quística, proceso que ocurre en las porciones bajas del íleon (Rodney, 2001)

La excreción del parásito puede ser tanto en forma de quiste como trofozoito, dependiendo de qué tan acelerado se encuentre el tránsito intestinal. Para el caso de los trofozoitos que son excretados, su forma de vida es nula puesto que no logran sobrevivir al ambiente. No así para los quistes que estarán listos para enfrentar las condiciones climáticas y esperar un tiempo hasta encontrar un nuevo hospedador.

Patogénesis

Ya que *G. lamblia* es una de las causas más comunes de brotes de enfermedades diarreicas transmitidas por agua, se había buscado la forma de controlarlo pero no se sabía cómo es que este protozoo actuaba y cuál era su mecanismo de patogenicidad. Hoy en día con los avances aportados por grandes investigadores se hace referencia a muchos de los cuales pueden ser las vías por las que causa problemas de infección intestinal.

G. lamblia generalmente se encuentra colonizando la superficie apical del enterocito y a menudo penetra en las criptas intestinales. Aunque no se consideraba un organismo invasor de la mucosa, se han mostrados evidencias que señalan que el trofozoito sí la invade, situación considerada como muy rara. Por ello, el hablar de la patología de este protozoo implica tomar en cuenta el curso de la enfermedad, desde la adquisición de la misma con la ingestión de los quistes, la presencia de los síntomas y el transporte que lleva a la manifestación de una diarrea aguda o crónica; factores que pudieran estar relacionados con este cambio que se manifiesta en el hospedero. Dentro de dichos factores consideran la genética del parásito, el medio ambiente predisponente a la infección, así como la carga parasitaria (Farting, 1997).

Puede formarse una barrera mecánica con la colonización del intestino delgado, la cual lleva a una disminución entre la materia absorbida y la región afectada. El hospedero se ve afectado por los millones de trofozoitos que recubren las microvellocidades y evitan que los nutrientes necesarios puedan ser absorbidos de la manera más eficiente, tales como las vitaminas A, D, E, K y B12, así como los ácidos grasos y carbohidratos. Los espacios donde los enterocitos están todavía libres de esta barrera, de alguna manera tienen que contribuir al aporte de la absorción que el resto de ellos no puede realizar y es como puede haber cambios en su estructura, generando un crecimiento del mismo y una mejor superficie con posibilidades de absorber mucho más nutrientes (Farting, 1997; Vázquez y Campos, 2009).

Es evidente que la adherencia de los trofozoitos ocasiona un daño al tejido epitelial del hospedero. Se ha visto a través de microscopía electrónica que ésta unión provocada por el disco succionario es muy fuerte. La composición principal de éste es a base de una proteína llamada tubulina, aunque existen otras como actina, miosina y tropomiosina que forman parte de la cresta lateral. La participación de éstas proteínas, además de sustancias que pudieran segregar el parásito, como tiol proteinasas, podrían de igual forma dañar el epitelio. Estudios recientes aseguran que además de las fuerzas mecánicas ejercidas por el trofozoito, también puede presentarse ayuda de fuerzas hidrodinámicas (Castillo-Romero y col., 2009; Fartin, 1997; Sousa y col., 2001).

Dada la posibilidad de la intensidad del daño que pudiera provocar la colonización de este microorganismo, en un esfuerzo por recuperar la normalidad de las microvellosidades de las criptas, se han realizado pruebas en jerbos (*Meriones onguiculatus*) para demostrar que puede haber una regeneración de enterocitos. Se ha visto que, cuando esto se presenta, los enterocitos son inmaduros en su función y su producción de enzimas (disacaridasas). Asimismo, se ha señalado que esta disminución de microvellocidades y deficiencia de disacaridasas está regulada por los linfocitos T (CD8+) y no por el parásito. Por otra parte, un estudio informó que la colonización del intestino de jerbos de

Mongolia, aumentó la absorción macromolecular en el yeyuno durante la fase aguda de la enfermedad, no así en la etapa de eliminación del protozoo (Chin y col., 2002)

En un estudio realizado en Kirkuk, Iraq a 997 niños de 1-12 años de edad, para determinar los cambios bioquímicos generados por la infección por *G. lamblia*, encontraron una disminución de los valores obtenidos para glicemia, colesterol, proteínas totales, albúmina y magnesio en sangre periférica (Yahya y col., 2007). La explicación de esto estriba en que el parásito requiere de todos estos compuestos para su sobrevivencia, principalmente los lípidos, que conjuntamente con las sales biliares provocan la liberación de moco a la corriente intestinal. También Saki en el 2011, encontró una diferencia significativa en los valores de algunos lípidos al realizar un perfil en suero, encontrando que a diferencia de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), el colesterol, triglicérido y lipoproteínas de baja densidad (LDL) se encontraron en niveles más bajos que el grupo control. También se ha visto que los niveles de hierro sérico, zinc y superóxido dismutasa son significativamente bajos en una giardiasis crónica, generándose consecuentemente el daño debido a la gran cantidad de radicales libres (Mustafa y col., 2003).

Además de la irritación de la mucosa intestinal, la celularidad intraepitelial seguramente sufre cambios cuando hay un daño a cualquier escala en el intestino delgado; empezando por la región de la lamina propia, la cual presenta nichos de linfocitos B y células plasmáticas que normalmente producen anticuerpos contra los parásitos entre ellos *G. lamblia*. Los linfocitos T también contribuyen en la defensa contra *G. lamblia* ya que, los de clase CD8+ muestran una especificidad para éste, tal y como lo mostraron las pruebas realizadas por Singer y Nash en el 2000.

La variación antigénica se considera como otro de los mecanismos patogénicos de este protozoo, y es que ante la presencia del sistema inmunitario para su eliminación, tiene que buscar formas de sobrevivencia y una de las estrategias es la variación en sus antígenos. Algunos de los antígenos más

comunes son, VSPA6 (CRP170) de 170 KDa y VSP1269 (CPR68) de 68 KDa (Rodney, 2001; Eckmann, 2003).

Factores que Predisponen a una Giardiasis

Dada la facilidad con la que *G. lamblia* coloniza la región del intestino delgado de un hospedero, es posible que en algunos casos sea mucho más evidente la enfermedad crónica, mientras que en otros no, incluso gran parte de la población es asintomática. Puede haber algunos factores que contribuyan a la gravedad del problema al momento de estar en contacto con este protozoo. A continuación se muestran algunas de las posibles razones o factores que podrían permitir la ausencia o manifestación de la enfermedad diarreica (Torres y col., 2000; Rodney, 2001; Eckmann, 2003):

Edad: Los niños menores de 5 años no han tenido contacto con la gran variedad de microorganismos a su alrededor y además su sistema inmunitario está, en muchos casos, aún madurando. Por ello son más susceptibles a una infección y la manifestación de ésta. Los adultos mayores también pueden presentar un cambio al infectarse con protozoos como *G. lamblia* ya que su sistema inmunitario a pesar de tener una memoria de información amplia sobre agentes extraños, este no es capaz de despertar la cantidad de células necesarias para contribuir a la eliminación del parásito.

Estado nutricional: El buen funcionamiento de nuestro sistema inmune requiere de un organismo bien nutrido, para estar preparado al enfrentarse a antígenos desconocidos para el organismo. La falta de nutrientes en la etapa de la niñez podrían dar pie a una epidemia y morbilidad de una serie de enfermedades, entre éstas la giardiasis. La aportación de zinc, hierro y ácido fólico ayudaría a fortalecer al sistema inmunológico.

Composición de la microbiota intestinal: Al realizar pruebas en roedores, se ha encontrado que es muy importante la microbiota intestinal, ya que ésta puede

ocasionar una susceptibilidad o resistencia hacia ciertos microorganismos y por ello no se descarta la posibilidad que la situación pueda presentarse de igual manera en seres humanos.

Inmunodeficiencias: En pacientes con problemas de carácter inmunológico se ha visto una mayor susceptibilidad a enfermedades diarreicas como la giardiasis, en especial cuando se tiene una deficiencia de inmunoglobulinas como IgA e IgG. El tratamiento en estos casos es difícil ya que debido a la complejidad de la enfermedad de fondo, algunos medicamentos no pueden ser utilizados.

Mecanismos de Defensa contra *G. lamblia*

El sistema inmunológico es el encargado de proteger contra agentes extraños al organismo, para ello se conocen dos formas en las que ésta trabaja para atacar, dependiendo de la patogenia de tal agente y su vía de entrada.

Las mucosas del intestino delgado son una capa húmeda formada por epitelio y tejido conjuntivo subyacente que reviste las paredes que están en contacto con el exterior. Sus funciones en general son: protección, absorción y secreción. La protección es dada básicamente por la lámina propia, un tejido conectivo areolar que contiene vasos sanguíneos y linfáticos por los cuales se absorben los nutrientes y donde se encuentran células del sistema inmunitario. Los linfocitos y macrófagos alojados en esta región reconocen antígenos extraños y montan una respuesta contra éstos.

Inmunidad Innata

La respuesta inmunitaria que el organismo monta al contacto con un agente extraño, está dada en primera instancia por sustancias que el mismo cuerpo secreta como producto. Ya sea para regular la temperatura corporal como lo es el sudor o bien, en el caso de las mucosas intestinales la secreción de enzimas y

otras sustancias que ayudan a mejorar el aprovechamiento de los alimentos degradados por la acidez estomacal. Algunas de estas sustancias secretadas por el intestino delgado son las siguientes:

Sales biliares: Durante el proceso de digestión las sales biliares ayudan a emulsionar los lípidos, ya que éstos puedan tener contacto con las enzimas para poder ser absorbidos en la pared intestinal y de esa forma llevan a cabo la metabolización de los mismos. Se ha visto que, en concentraciones bajas colabora con el parásito para obtener del colesterol las moléculas de esteroides y fosfolípidos que por sí solo no puede sintetizar, pero en concentraciones mayores promueve la formación del quiste y el desprendimiento de la pared intestinal.

Proteasas: Conocidas también como peptidasas por ser enzimas encargadas de romper los enlaces peptídicos de las proteínas. Su función puede ser específica para romper en determinada secuencia de aminoácidos o simplemente destruir una de ellas. Son una importante fuente de defensa a la hora de atacar un agente microbiano.

Óxido Nítrico: Además de tener un papel en la neurotransmisión y la regulación de la integridad de la barrera mucosa y el tono vascular del intestino, es un potente antimicrobiano y antiparasitario que se produce enzimáticamente a partir de la arginina mediante la óxido nítrico sintetasa.

Renovación celular: Sin duda la regeneración celular del intestino es algo común que dura de 3 a 5 días. Además de la existencia de células senescentes que necesitan cambiarse por unas nuevas, las que sufren algún daño son sustituidas por nuevas. Los trofozoitos que se adhieren a estas células tienen que desprenderse y cambiar de sitio de unión sin ser arrastradas por el moco.

Movimiento peristáltico: Desde la entrada de los trofozoitos a la región de intestino delgado, éstos pueden ser arrastrados por el movimiento peristáltico, incluso aquellos que no consiguieron adherirse nuevamente a una célula epitelial por una renovación y que quedan atrapados en el moco intestinal.

Leche Humana: Se ha visto que muchos trofozoitos mueren *in vitro*, independientemente de la presencia de anticuerpos IgA específicos en la misma leche humana. En consecuencia a ello, a varios de los componentes no inmunológicos de la secreción mamaria tales como lactoferrina, ácidos grasos insaturados y ácidos grasos libres, se les ha encontrado actividad giardicida (Eckmann, 2003).

Formas reactivas de oxígeno: *G. lamblia* es un parásito microaerofílico facultativo y en consecuencia, tiene una capacidad reducida para deshacerse y neutralizar formas reactivas de oxígeno, como el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno. Utilizan para ello la enzima NADH oxidasa y NADH peroxidasa, en lugar de las convencionales y más eficaces como peróxido dismutasa, catalasa y peroxidasa. Teniendo en cuenta que el potencial microbicida de las formas reactivas de oxígeno y que las células epiteliales son productoras de las mismas, se ha sugerido que éstas forman parte de la inmunidad innata contra giardias (Saleh, 2010).

Células caliciformes: Son células encargadas de la producción del moco que ayudan atrapando microorganismos y partículas para que éstos no puedan adherirse a la pared intestinal.

Una de las células que participa en ésta primera defensa contra *G. lamblia* es el mastocito, ya que ratones deficientes de éstos son incapaces de controlar una infección por tal parásito. Datos recientes demuestran que mastocitos murinos influyen sobre el desarrollo, magnitud y cinética de las respuestas inmunitarias adquiridas al ejercer sus efectos, mediados por citocinas como IL-4, IL-5 e IL-6.

En un estudio realizado a 315 muestras de sujetos humanos entre 2 y 65 años se encontró que el 18% de estos presentaron valores por encima del 5% de eosinófilos analizado en un estudio diferencial de muestras de sangre periférica. Esto podría indicar una participación importante de dicha población de eosinófilos en la defensa contra *G. lamblia* (Saki y col., 2011).

Aunque se han encontrado trofozoitos de *G. muris* en macrófagos del intestino delgado de roedores, y siendo éstos parte de la respuesta innata contra microorganismo extraños, podría esperarse que de igual manera se presentara en humanos para *G. lamblia*; sin embargo, esto no fue así (Faubert, 2000).

Inmunidad Adaptativa

Sin duda para fortalecer y reforzar el ataque contra un microorganismo es necesaria la participación de diferentes células. Se ha demostrado que tras el daño que pudiera causar el parásito a la región intestinal, las defensas más cercanas al sitio de la lesión son las que se encuentran en la lámina propia, en donde las células M juegan un papel importante al transportar al antígeno a las placas de Peyer.

Cuando el daño provocado por la colonización de *G. lamblia* es de tal grado que el acceso al interior de la lámina propia es posible, el reconocimiento de antígenos extraños por linfocitos T (CD8+) es evidente y las células M se apresuran a llevar la información de una infiltración a los nódulos linfáticos más cercanos.

Se ha dicho que cuando los linfocitos T atacan a los trofozoitos presentes en el intestino promueven una atrofia de las microvellosidades, pero también se ha visto que éstos pueden estar implicados en la atrofia de vellosidades en otros desórdenes. A pesar de los daños secundarios que ocasiona la activación de células T, pruebas en ratones infectados, ya sea con *G. lamblia* o *G. muris* y deficientes de células T, son incapaces de resolver la infección (Scott y col., 2000; Singer y Nash, 2000).

La participación de células T es muy evidente en una parasitosis causada por este protozoo, pero también es preciso hacer notar que los linfocitos T (CD4+) son parte del grupo de células encargadas de llevar la información a las demás, por ello son conocidas como células cooperadoras. No así para los linfocitos T

(CD8+) los cuales al serles presentada la información del agente extraño acuden al sitio de la lesión para su eliminación. Por ello al infectar ratones BALB/C con 150 quistes de *G. muris* mostraron un aumento significativo en el número y porcentaje de linfocitos CD4+ y CD19+, pero no así para CD8+. (Abdul-Wahid y Faubert, 2008).

Es claro notar la forma en que el sistema inmunológico está estructurado, la forma en cómo responde y cómo puede atraer rápidamente a otras células distantes del sitio de la lesión. Sin duda para solicitar la ayuda de otras células es necesaria la liberación de citocinas por las primeras células que acuden al lugar. Algunas de las citocinas que tienen participación en esta parasitosis según artículos publicados son la IL-6, IL-4, IL-5 e IFN- γ .

Al realizar un análisis de las placas de Peyer, se encontraron niveles considerables de IL-4, IL-5, IL-6 e IFN- γ ya que éstas ayudan en el control de la respuesta tipo TH1 y TH2. La citocina IL-6 es inductora de una respuesta TH2, relacionada con una inmunidad humoral en oposición a la respuesta TH1, la cual es producida por un gran número de células, incluyendo enterocitos epiteliales, monocitos y macrófagos. Los Linfocitos B se diferencian en células plasmáticas por la presencia de IL-6 y se promueve la síntesis de inmunoglobulinas, en especial mejorando la respuesta de la inmunoglobulina A (IgA). También la proliferación de células T tiene como objetivo la producción de las citocinas mencionadas (Singer y col., 2003; Scott y col., 2000; Abdul-Wahid y Faubert, 2008).

Una de las líneas celulares con gran importancia y sin despreciar la gran importancia de los linfocitos T, es la participación de linfocitos B. La célula B, además de ser productora de anticuerpos, puede endocitar y presentar antígenos. Este proceso implica su activación, proliferación y diferenciación a células plasmáticas que liberan inmunoglobulinas específicas para la neutralización y/o opsonización del antígeno. La ayuda de algunas proteínas conocidas como complemento es requerida para mejorar la efectividad de la eliminación del antígeno cuando así lo requiera.

Una de las inmunoglobulinas involucradas en la defensa de las mucosas importante en la infección por *G. lamblia* es la IgA, cuya participación es de gran importancia para la resolución de una giardiasis crónica. La producción de ésta inmunoglobulina es dependiente de los linfocitos B diferenciados a células plasmáticas, por ello de igual manera la importancia para éstas células es crucial (Langford, 2002).

En publicaciones del 2000 realizadas por Steven Singer y Theodore E. Nash se afirmó que la participación de los linfocitos B y la actividad humoral de IgA eran independientes de los linfocitos T para la resolución de la giardiasis. Se sabe que el sistema inmunológico está perfectamente estructurado para de alguna forma compensar la falta de función de alguno de sus miembros si éstos fallan. También es importante recordar que los linfocitos T (CD4+) son necesarios para reproducir la información y ayudar a la activación de otras células, lo cual no descarta que los linfocitos B contribuyan a la eliminación del parásito con mayor rapidez.

Gaétan Faubert en la misma fecha que Singer y Nash publicaron que, frente a una infección en ratones con *G. muris* se presentaba una gran cantidad de IgA e IgG, las cuales se unían a los trofozoitos que colonizaban el intestino. Asimismo el porcentaje de trofozoitos con neutrófilos adheridos aumentó con la presencia de anticuerpos anti-giardia específicos, especialmente IgG. Esto demuestra la gran participación de las células B diferenciadas y su compromiso en la producción de inmunoglobulinas específicas (Faubert, 2000).

La resolución de la enfermedad parasitaria causada por *G. muris* o *G. lamblia* puede resolverse con la participación de la secreción de IgA. La falta de esta inmunoglobulina retrasa la eliminación del parásito. Además, cuando los linfocitos B están deficientes en ratones, su efectividad para resolver la infección se ve disminuida, fenómeno no tan marcado ante la deficiencia de IgA (Langford y col., 2002).

Sin duda los linfocitos B tiene una participación importante en la erradicación de *G. lamblia* ya que la transformación de éstas a células plasmáticas, para la secreción de inmunoglobulinas encargadas de resguardar las mucosas del intestino, como es el caso de IgA, colaboran de forma sinérgica en la resolución más rápida del problema.

La evaluación cinética de la eliminación de *G. lamblia* en jerbos además de la actividad humoral sistémica (IgG, IgM e IgE) y secreción intestinal de IgA mostraron que, independientemente de la cantidad de quistes con la que fueron infectados los diferentes grupos de estudios, todos pudieron resolver la infección y los niveles de la actividad humoral tanto sistémica como local. Esto nuevamente confirma que la participación de linfocitos B en la generación de una respuesta humoral para contrarrestar la parasitosis presente es de gran importancia (Amorim y col., 2010).

Dada la gran cantidad de literatura que discute la participación de linfocitos B en la eliminación de *G. lamblia*, se ha propuesto la elaboración de una vacuna con el fin de prevenir nuevas infecciones. Uno de los aspectos que se han tomado en cuenta para esta propuesta es la generación de linfocitos B de memoria. En este punto es preciso tomar en cuenta la cantidad de proteínas presentes en la superficie de los trofozoitos y quistes que funcionan como buenos inmunógenos, además del tiempo de duración de la infección en el hospedero para generar células de memoria. Lo anterior, aunado a la generación de una variabilidad antigénica contra la respuesta inmune del hospedero (Lee y col., 2011).

G. lamblia tiene genéticamente dos grupos definidos como conjunto A y conjunto B mismos que se han encontrado parasitando a mamíferos como el humano, y además se han relacionado con la patogenia de este parásito. El conjunto A se ha relacionado con la probabilidad de presentar diarrea y el conjunto B se dice que es de carácter asintomático. En México se encontró el conjunto A. (Cacció y Ryan, 2008).

Debido a que puede haber una diferencia en la respuesta dada por una infección parasitaria por parte de roedores, jerbos y humanos, es de gran importancia evaluar la actividad de los linfocitos B en niños de edad preescolar cuando éstos presentan la infección. Hay que recordar que la microbiota intestinal puede aceptar la colonización por *G. lamblia* o bien rechazarla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos de Estudio

Se incluyeron niños de edad escolar primaria de 6 a 12 años de edad. A sus padres se les solicitó su consentimiento mediante un informe por escrito y firmado.

Al estudio acudieron 68 infantes (31 niñas y 37 niños) de tres escuelas primarias, dos rurales y una urbana, entre junio y diciembre del 2011. Estas muestras se procesaron para una biometría hemática (BH) y un coproparasitoscópico seriado (CPS).

En base al resultado del CPS se agruparon como parasitado o no parasitados y se organizaron diferentes grupos (tabla 3).

Sujetos sanos

Con el objeto de conformar un grupo de sujetos control sanos, a los sujetos no parasitados se les realizó una BH. De éstos solamente 10 niños mostraron una BH normal. De tal manera que el grupo control de sujetos sanos se conformó por 10 niños (6 niñas y 4 niños), ninguno refirió enfermedad o infección reciente, tampoco tuvieron algún padecimiento que pudiera ocasionar alguna variación en sus niveles normales de linfocitos.

Sujetos Parasitados

El grupo de sujetos parasitados estuvo conformado por 15 niñas y 19 niños. Estos individuos se organizaron a vez en tres grupos dependiendo de la parasitosis presentada. En el grupo de niños parasitado únicamente con *Giardia lamblia* se le denominó grupo 1, y estuvo conformado por 13 niños y 7 niñas. El grupo 2, fue el de niños multiparasitados (*Giardia lamblia*, *Entamoeba coli*, *Endolimax nana* y *Iodamoeba butschlii*) y sus integrantes fueron, 4 niños y 5 niñas.

El grupo 3 estuvo conformado con 5 sujetos, (2 niños y 3 niñas) pero parasitados con *Endolimax nana*.

Ninguno de los sujetos presentó síntoma de parasitosis o enfermedad secundaria al estudio.

Tabla 3. Grupos utilizados en el análisis

	Número de niños	% infectados
Grupo control	10	
Infectados	34	
• Grupo 1 (<i>Giardia lamblia</i>)	20	58.8
• Grupo 2 (<i>Giardia lamblia</i> y otros parasitos)	9	26.5
• Grupo 3 (<i>Endolimax nana</i>)	5	14.7

Muestras Biológicas Utilizadas en el Estudio

Sangre Total

Se obtuvieron muestras de sangre periférica a los niños participantes por medio del sistema al vacío por punción venosa, y se recolectaron en tubos con anticoagulante EDTA. Las 68 muestras fueron recolectadas a niños de diferentes escuelas, dos de ellas fueron primarias del sector rural y una urbana. Todas las muestras fueron procesadas en las primeras 4 horas después de su recolección.

Muestras de Heces Fecales

Se solicitó a cada niño, recolectar muestras por triplicado de heces fecales en recipientes limpios y secos.

En ocasiones cuando las muestras no fueron procesadas en las primeras horas, se conservaron a 4-6 °C.

Examen Coproparasitológico (CPS)

Cada una de las muestras recolectadas se analizó por el método de Faust, tomando una pequeña cantidad de muestra y homogeneizándola con formol al 5%. Las muestras se filtraron y centrifugaron a 2 000 G por 1 min. Las muestras se decantaron y enseguida se resuspendieron con sulfato de zinc y posteriormente se centrifugaron. Del menisco formado tras la adición de sulfato de zinc se tomó una pequeña alícuota con asa bacteriológica para observarlo al microscopio en una solución de lugol. Todo esto en base al manual de técnicas del laboratorio de parasitología del departamento de nutrición en el centro de investigación alimentaria y desarrollo (CIAD) de Hermosillo Sonora México.

La observación en el microscopio óptico de estas preparaciones se realizó a una resolución microscópica de 40X. Los parásitos encontrados se reportaron en una bitácora, cada uno con el nombre de especie y con cruces para la cantidad de los mismos, una cruz para el mínimo y cuatro cruces para el máximo.

Citometría de Flujo

Tinción de linfocitos B

Se incubaron 50 μ L de la sangre periférica recolectada de cada niño con 2 μ L del anticuerpo monoclonal fluoromarcado anti-CD19 FITC (Becton & Dickinson) para determinar la población de linfocitos B. Se incluyó una preparación de células sin el anticuerpo como control.

Las muestras se incubaron 30 minutos a temperatura ambiente y en la oscuridad. Posteriormente, los eritrocitos se lisaron agregando a cada muestra una solución comercial de lisis (FACS Lysing Solution-Becton Dickinson) por un lapso de 15 minutos en la oscuridad, luego se centrifugó a 1 500 G por 5 minutos. Las muestras se lavaron con una solución amortiguadora de fosfato (PBA) y al final se fijaron con paraformaldehído (PFA) al 1%.

Adquisición y Análisis de la población de linfocitos B

Las células fueron adquiridas y analizadas en un citómetro de flujo FACScanto®, por medio del software DIVA.

Para buscar diferencias entre el grupo de sujetos sanos y los grupos de sujetos parasitados se utilizó la prueba U de Mann Whitney del paquete SPSS para Windows versión 15.0.

El análisis de la población de células B fue definido de la siguiente forma; se generó un gráfico de puntos a partir del total de células adquiridas, donde cada punto representa una célula. En dicho gráfico primeramente se definió la región de linfocitos totales en base a sus características de tamaño y complejidad celular relativas (fig. 5A). A partir de esta región y con la ayuda del mismo software DIVA se definió la población de linfocitos B en base a la expresión del marcador CD19+ (ordenadas) y la complejidad celular (abscisas) tal como lo muestra la figura 5B. Tal población de linfocitos B se puede observar también en otro tipo de gráfico llamado histograma y está representado por la figura 5C.

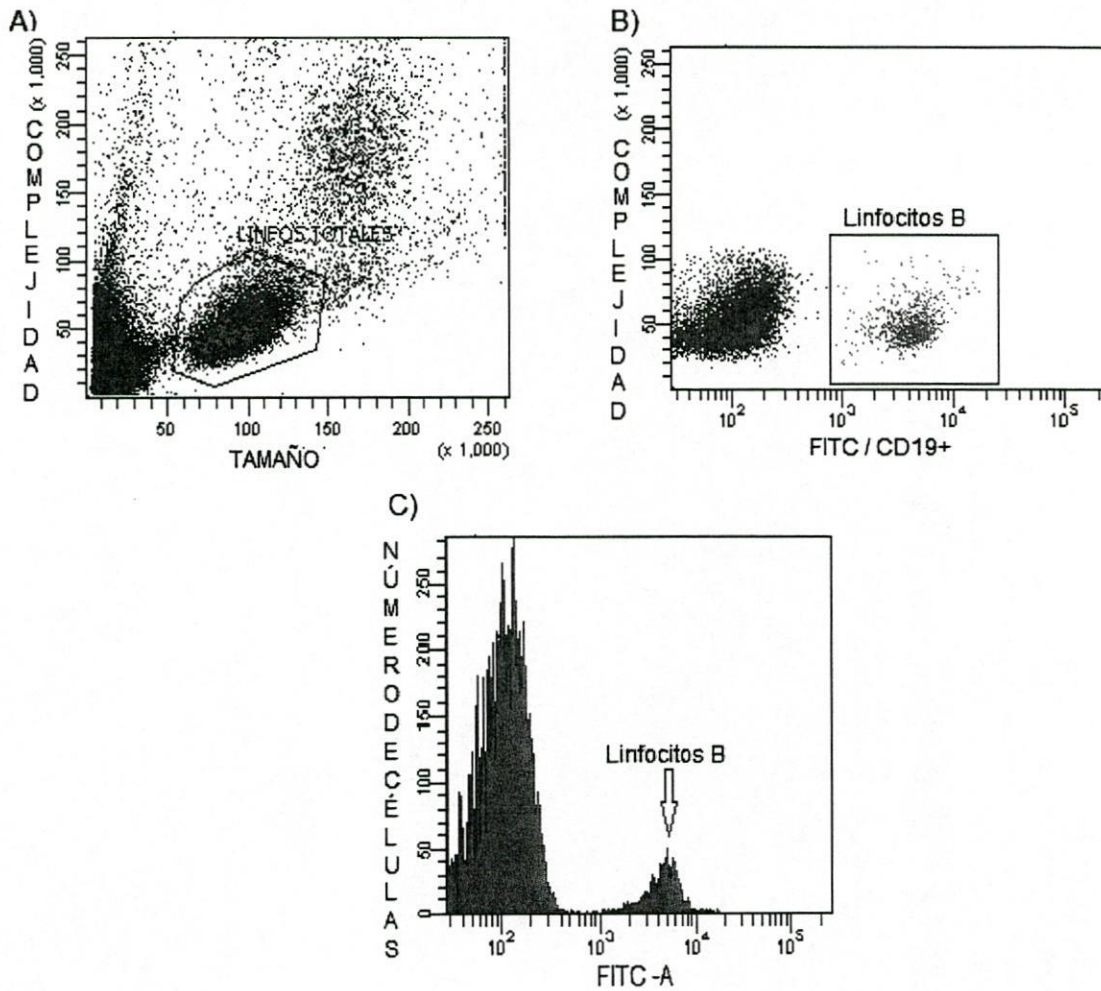


Figura 5. Análisis de la población de linfocitos B en muestras adquiridas. A) Linfocitos totales definidos en base a tamaño y complejidad; B) Linfocito B definidos por su expresión de CD19; C) Histograma que muestra los linfocitos B (CD19FITC+).

Biometría Hemática

Las muestras de sangre total recolectadas en tubos con anticoagulante EDTA se procesaron en un contador de células BECKMAN Coulter® ubicado en el Laboratorio de Análisis Clínicos e Investigación de la Universidad de Sonora (LACIUS). Los valores de linfocitos totales obtenidos en 10^3 cel/ μ L fueron utilizadas para el cálculo de linfocitos B absolutos.

RESULTADOS

Para el análisis de los resultados, éstos fueron organizados de la manera siguiente: un grupo control sano, sin parásitos y con una biometría hemática normal; el grupo 1, parasitado únicamente con *G. lamblia*; el grupo 2, parasitado con *G. lamblia* y otros parásitos; y el grupo 3, parasitado con *Endolimax nana*.

Para cada grupo se llevó a cabo utilizando del software DIVA y los datos del hematocitometro Coulter, los cálculos de linfocitos totales y linfocitos B absolutos. Los datos de media (X) y desviación estándar (DS) para éstos se muestran en la tabla 4, donde se puede observar que los individuos tanto del grupo 1 (4.28 ± 1.27) como del grupo 2 (3.64 ± 1.71), presentaron un valor medio de porcentaje de linfocitos B menor al del grupo control (5.65 ± 1.91).

De igual forma para los datos absolutos de los sujetos de estudio, se encontró que tanto el grupo 1 (0.14 ± 0.05) como el grupo 2 (0.13 ± 0.08) ambos parasitados con *G. lamblia*, mostraron niveles absolutos de linfocitos B menores al grupo control (0.23 ± 0.12).

Sin embargo, los individuos parasitados con *Endolimax nana* (grupo 3), considerada como no patógeno, mostraron tanto porcentajes (7.7 ± 0.03) como valores absolutos (0.30 ± 0.14) de linfocitos B mayores que los controles (0.23 ± 0.12).

A partir de los datos mostrados en la tabla 4, se realizó un análisis comparativo de los grupos 1,2 y 3, respecto al grupo control, con el fin de evaluar si las diferencias tenían significancia. Este análisis se realizó con el método de U-Mann Whitney del software SPSS versión 20.0 para Windows.

Tabla 4. Medias y desviaciones estándar de los grupos de estudio.

GRUPO	% LCB	LCB absoluto
Control	5.65 ± 1.91	0.23 ± 0.12
Infectados:		
1.- <i>Giardia lamblia</i>	4.28 ± 1.27	0.14 ± 0.05
2.- <i>Giardia lamblia</i> y otros	3.64 ± 1.71	0.13 ± 0.08
3.- <i>Endolimax nana</i>	7.70 ± 0.03	0.30 ± 0.14

La figura 6 muestra un diagrama de cajas que comparan los datos del grupo 1 de los individuos parasitados exclusivamente con *G. lamblia* con el grupo control. La media de los porcentajes (figura 6A) de linfocitos B del grupo de los parasitados con *G. lamblia* son menores que los del control indicando una significancia, más sin embargo de acuerdo al punto de corte ($p < 0.05$) ésta no tiende a ser significativa ($p=0.061$). La media de los valores absolutos (figura 6B) de linfocitos B del grupo de los parasitados con *G. lamblia* son menores que los del control y ésta es significativa, así como también es menor al punto de corte ($p=0.019$).

La figura 7 muestra un diagrama de cajas que comparan los datos del grupo 2 de los individuos parasitados con *G. lamblia* y otros parásitos con el grupo control (sujetos sanos). La media de los porcentajes (figura 7A) de linfocitos B del grupo de los parasitados con *G. lamblia* y otros parásitos es significativamente menor a la media del grupo control, como también la "P" obtenida ($p=0.022$) es menor al punto de corte. Así mismo, la media de los valores absolutos (figura 7B) de linfocitos B del grupo de los parasitados con *G. lamblia* y otros parásitos son menores que los del control y ésta es significativa ($p=0.028$).

La figura 8 muestra que los individuos parasitados con *Endolimax nana* no presentan diferencias significativas en sus porcentajes ($P= 0.254$) de linfocitos B y valores absolutos ($P= 0.513$) de estos con respecto al grupo control (sujetos sanos).

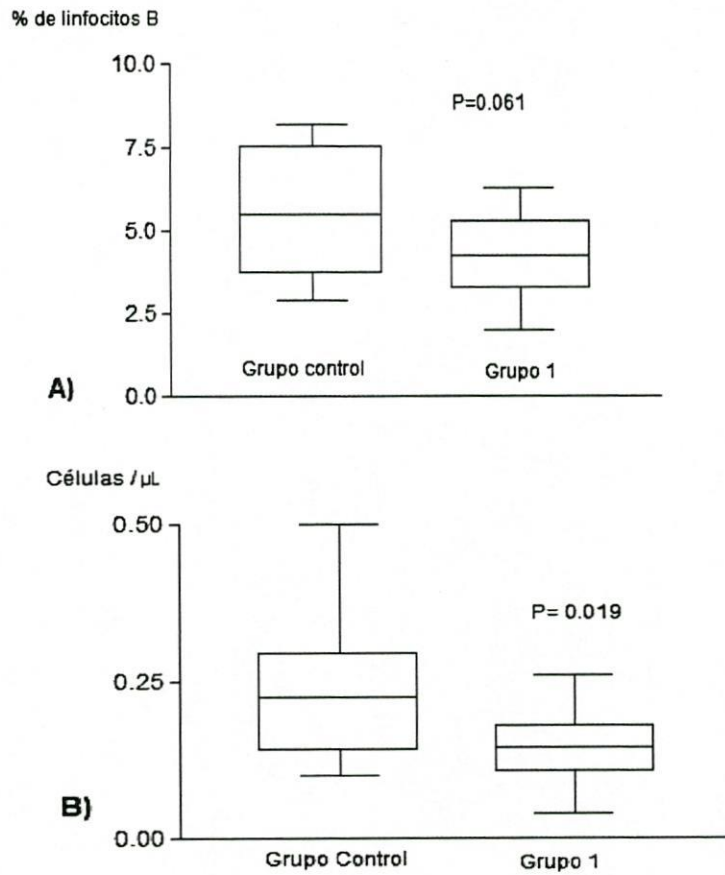


Figura 6. Análisis del porcentaje (A) y valores absolutos (B) de linfocitos B en grupo 1 parasitados con *G. lamblia*.

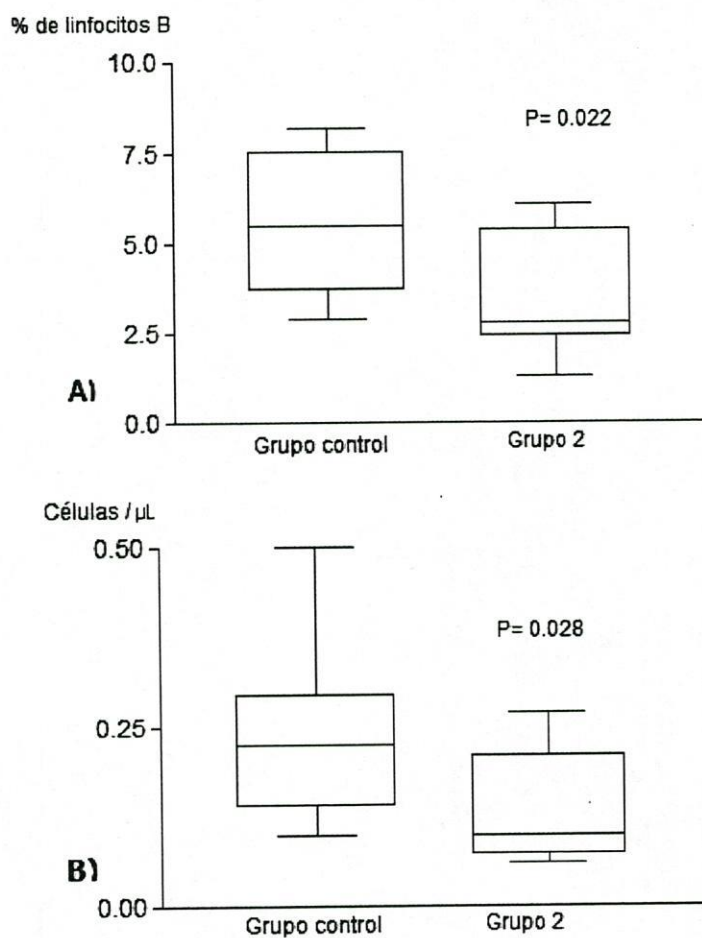


Figura 7. Análisis del porcentaje (A) y valores absolutos (B) de linfocitos B en grupo 2 parasitados con *G. lamblia* y otros.

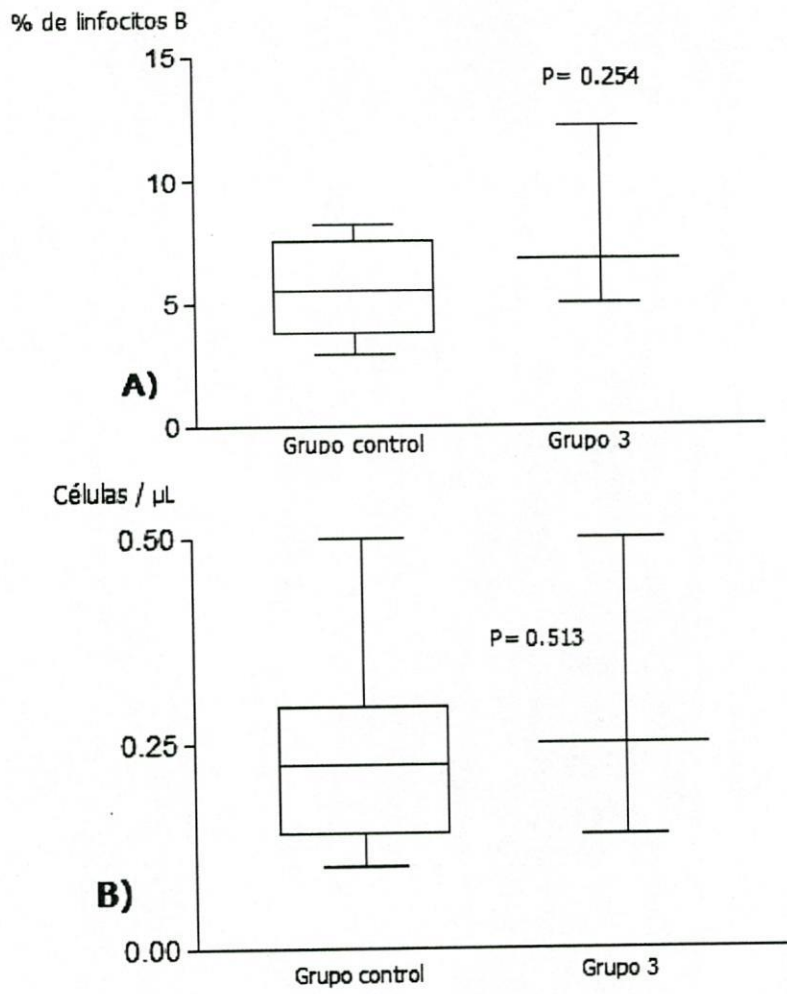


Figura 8. Análisis del porcentaje (A) y valores absolutos (B) de linfocitos B en grupo 3 parasitados con *G. lamblia* y otros.

DISCUSIÓN

La giardiasis es una de las enfermedades diarreicas que mas afecta a la población de las zonas urbanas de Sonora. Tan solo en el 2010 los estudios epidemiológicos del Instituto Epidemiológico Nacional mostraron que la edad más afectada en Sonora es de 1-4 (con 89 casos) y 5-9 (con 78 casos) con un índice de prevalencia del 29%. En las zonas urbanas de Hermosillo Sonora, el índice de prevalencia puede alcanzar hasta el 35%, habiendo una variación dependiendo del área de la ciudad y de la época del año (SINAVE, 2010; Quihui-Cota y col., 2000).

La presencia y frecuencia de una parasitosis causada por *Giardia lamblia* en México es de 55.3% con una variación por época del año y área de estudio, lo que sin duda tiene mucha relación con su ciclo de vida en distintos climas distintos. Una parasitosis causada por helmintos es mucho más frecuente en zonas tropicales y subtropicales causando muchas veces morbilidad y mortalidad, principalmente en países endémicos, no así en enfermedades por protozoos que son mucho más comunes las infecciones gastrointestinales (Cedillo-Rivera y col., 2009; Rashidul, 2007).

Giardia lamblia es un parásito de carácter patógeno causal de la giardiasis, una de las infecciones intestinales más comunes al nivel mundial, la cual puede presentarse con síntomas de diarrea, nauseas, vómito, pérdida de peso (Eckman, 2003); sin embargo, los sujetos del grupo 1 infectados exclusivamente con *G. lamblia*, no presentaron tales síntomas. La figura 6 muestra los niveles de linfocitos B del grupo 1, cuyos valores absolutos son estadísticamente diferentes al grupo control. Esto sugiere que el nivel de los linfocitos B en sangre periférica de los pacientes se ve afectado significativamente en la infección por *G. lamblia*.

Singer y Nash (2000) reportaron que al infectar ratones C57BL/6J y BALB/cJ deficientes de células B con *G. muris* o *G. lamblia*, los ratones resolvieron la infección en la primera y segunda semana post-infección, concluyendo que la eliminación de los parásitos no dependía de los linfocitos B.

Sin embargo, Abdul-Wahid y Faubert (2008) al realizar una caracterización de la respuesta inmune local contra antígenos de quistes de *G. muris* encontraron un aumento significativo de linfocitos B (CD19+). Esto muestra que la participación de las células B (CD19+) es importante en la respuesta inmune local contra el parásito. Asimismo, se estudió la respuesta humoral sistémica y local de ratones C57BL/6 infectados con *G. lamblia* (GS/ M-83-H7) por Stager y col., en 1997, quienes observaron un aumento de IgA intestinal e IgG sistémica. Además, los estudios realizados por Stager y Muller (1997), en los que infectaron ratones C57BL/6, deficientes de células B y secreción humoral, con *G. lamblia* (GS/M-83-H7), observaron que éstos eran incapaces de resolver la enfermedad y aseveraron que la participación de IgA y los linfocitos B es crítica en el control de la giardiasis.

De igual forma, Langford y col. (2001) confirmaron la participación de IgA y células B al infectar ratones B6129F₁/J y C57BL/6, deficientes de producción de IgA, IgG y células B con *giardia spp.* Los resultados del estudio realizado por Langford mostraron que los animales de experimentación tuvieron dificultad para esclarecer la infección.

Desafortunadamente los estudios que hacen referencia a la participación de los linfocitos B y la respuesta inmune humoral en humanos sobre los casos de giardiasis son muy pocos. La investigación en relación a la respuesta inmune al nivel de las mucosas es mínima porque además de someterse a una intervención en la que se utilizarían medios invasivos, son procedimientos muy caros.

El-Gebaly y col. (2012) realizaron mediciones de IgA e IgG específicos contra antígenos de *G. lamblia* en saliva y suero de niños preescolares, concluyendo que los niveles eran altos en comparación al grupo control (no parasitados). De tal manera que, los linfocitos B como secretores de IgA e IgG son importantes.

Por las evidencias anteriores y en base a los resultados aquí obtenidos y presentados en la figura 6, se puede inferir que el bajo nivel de linfocitos B en sangre periférica de los pacientes aquí estudiados se debe a que éstos se encuentran concentrados a nivel intestinal tratando de eliminar la parasitosis por *G. lamblia*.

En una parasitosis por *G. lamblia* presentada concurrentemente y rebasando los 100 quistes/campo en un CPS, podría presentarse una variación antigénica entre las generaciones lo que dificultaría su eliminación. En el análisis CPS de un grupo de sujetos parasitados con *G. lamblia*, el 25% de los sujetos presentaron abundantes quistes, 35% un número moderado y el resto escasos (Rodney, 2001). Abundantes quistes en el intestino pueden llegar a traumatizar o crear una barrera mecánica en el tejido dependiendo de la cantidad de los parásitos en el mismo (Rodney, 2001; Vásquez y Campos, 2009).

Uno de los aspectos más importantes del grupo 1 de esta investigación es que son asintomáticos. En este sentido, se han realizado estudios en los que han evaluado la actividad humoral (IgA, IgG, IgM) en suero de pacientes egipcios sintomáticos y asintomáticos ante una infección por *G. lamblia* mostrando que los valores eran mucho más altos en los pacientes que presentaron síntomas, especialmente IgA (Soliman y col., 1998).

En lugares de hacinamiento con condiciones sociales difíciles, además de los malos hábitos de higiene, la probabilidad de presentar una multiparasitosis es mucho mayor. En el presente estudio esta situación no fue la excepción, ya que de los niños parasitados un grupo presentó multiparasitosis (grupo 2). En ellos se encontró, además de *G. lamblia*, un grupo de parásitos comensales: *Endolimax nana*, *Entamoeba coli* e *Iodamoeba butschlii*. Aunque los comensales no son considerados patógenos, su presencia a nivel intestinal puede facilitar la colonización de éste por parásitos patógenos, en este caso *G. lamblia* (DiMiceli, 2004; Faulkner, 2003).

Tanto los porcentajes ($p=0.022$) como los valores absolutos ($p=0.028$) del grupo 2 (*G. lamblia* y otros parásitos) muestran una diferencia significativa. La actividad del sistema inmune por medio de los linfocitos B parece tener gran importancia en su control. La media de estos datos (valores porcentuales y absolutos) muestra de igual manera una significancia en la participación de los linfocitos B con la presente parasitosis.

En este contexto, no existe ningún estudio en humanos donde se analice la población de linfocitos B, sin embargo, Rodríguez y col. (2004) determinaron los niveles de IgA en suero y saliva de 22 sujetos multiparasitados que incluían *G. lamblia*. Ellos encontraron que los valores de IgA fueron más altos en este grupo que en el control, pero menores a los que fueron parasitados únicamente por *G. lamblia*.

Considerando que la disminución de linfocitos B de sangre periférica en los pacientes objeto de este estudio es debida a su migración al sitio de infección y comparando con el resultado de Rodríguez anteriormente mencionado, es posible señalar una relación inversa entre nivel de linfocitos B en sangre periférica y niveles séricos de IgA entre ambos estudios tanto para el grupo de parasitados únicamente con *G. lamblia* como para los multiparasitados. Finalmente, ambas investigaciones están señalando claramente la importancia que la respuesta inmune humoral tiene en este tipo de parasitosis.

Es importante destacar que en el presente estudio se encontró una población asintomática (grupo 3). Tal población presentó en su CPS únicamente *Endolimax nana* el cual está clasificado como comensal no patógeno para el hombre. Así, los niveles de linfocitos B en este grupo son normales, incluso presentan valores (porcentaje y absolutos) por encima de los del grupo control. Sin embargo, es pertinente hacer notar que la presencia de este parásito (grupo 3) es un indicador de contaminación oral-fecal por los alimentos o agua contaminada a consecuencia de una higiene deficiente, situación que predispone al individuo a otro tipo de infecciones parasitarias incluso bacterianas.

CONCLUSIONES

En la evaluación de los niveles de linfocitos B (CD19+) realizado a niños de 6 a 12 años de tres escuelas en la ciudad de Hermosillo Sonora parasitados con *G. lamblia* o no, ratifica que el estado de Sonora es una zona endémica para este tipo de parasitosis.

Se logro evaluar la población de cada sujeto de estudio por medio de citometria de flujo, de tal manera que se pudiera demostrar la participación de esta línea celular en la defensa de esta parasitosis.

Con el apoyo de una Biometría hemática y los datos recolectados por el citómetro de flujo se obtuvo los valores absolutos de linfocitos B (CD19+).

Se estableció una relación entre la presencia de linfocitos B (CD19+) y el diagnostico de la giardiasis, demostrando que en sujetos parasitados con *G. lamblia* hay una afección de esta línea celular, que esta disminuye con la presencia de este parásito.

En el estudio también se encontró la presencia de otros parásitos que de acuerdo a los datos recolectados podrían indicar que hay una afección hacia la parte inmunitaria del sujeto, pero la "n" de estudio para estos no se considera confiable para tomar este resultado como confiable.

RECOMENDACIONES

Es pertinente recomendar la extensión de este trabajo de investigación incorporando un mayor número de individuos para de esta manera abarcar la diversidad de factores que pudieran llevar a un dato mucho más confiable.

También es recomendable profundizar en el conocimiento de los niveles de inmunoglobulinas y las correlaciones de éste parámetro con los niveles de linfocitos B.

Finalmente sería recomendable también llevar a cabo una evaluación de los linfocitos B antígeno específicos que implique la medición de su concentración, su capacidad de activación, proliferación y diferenciación.

BIBLIOGRAFÍA

Abdul-Wahid A., G. Faubert. 2008. Characterization of the local immune response to cyst antigens during the acute and elimination phases of primary murine giardiasis. *Int. J. Parasitol.* 38 (6): 691-703.

Amorim R.M.R., D.A.O. Silva, E.A. Taketomi, M.G.V.A. Morato, M.J.S. Mundim, D.P. Ribeiro, T.C. Oliveira, J.C. Viana, M.A. Gomes, M.C. Cury. 2010. *Giardia duodenalis* : kinetics of cyst elimination and the systemic humoral and intestinal secretory immune responses in gerbils (*Meriones unguiculatus*) Experimentally Infected. *Exp. Parasitol.* 125 (3): 297-303.

Andrew-Thompson R. C. 2008. Giardiasis: Conceptos modernos sobre su control y tratamiento. *Ann Nestlé.* 66: 23-29.

Astiazarán-García H., M. Espinosa-Castellano, G. Castañón, B. Chávez-Munguía, A. Martínez-Palomo. 2000. *Giardia lamblia*: Effect of infection with symptomatic and asymptomatic isolates on the growth of gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Exp. Parasitol.* 95, 128-135.

Brandonisio O. 2006. Waterborne transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. *Parasitol.* 48 (1-2): 91-4.

Cacció Simone M., Une Ryan. 2008. Molecular epidemiology of giardiasis. *Mol. Bio. Parasitol.* 160: 75-80.

Castillo-Romero A., Leon-Avila G., Perez-Rangel A., Cortés Zarate R., Garcia-Tovar C., Hernandez M. J. 2009. Participation of actina on *Giardia lamblia* growth and encystation. *Plos ONE.* 4 (9): e7156.

Cedillo-Rivera R., Leal Y. A., Yépez-Mulian L., Gómez-Delgado A., Ortega-Pierres G., Tapia-Conyer R., Muñoz O. 2009. Seroepidemiology of Giardiasis in México. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 80 (1): 6-10.

Céu Sousa M., C. A. Goncalves, V. A. Bairos, J. Poiaraes-da-Silva. 2001. Adherence of *Giardia lamblia* trophozoites to Int-407 human intestinal cells. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 8 (2): 258-265.

Charles T. Faulkner, Borrego Garcia B., Michael H. Logan, John C. New, Patton S. 2003. Prevalence of endoparasitic infection in children and it's relation with cholera prevention efforts in México. Rev. Panam. Salud Pública. 14 (1): 31-41.

Chin A. C., D. A. Teoh, K.G.-E. Scott, J. B. Meddings, W. K. Macnaughton, A. G. Buret. 2002. Strain-Dependent Induction of Enterocyte Apoptosis by *Giardia lamblia* Disrupts Epithelial Barrier Function in a Caspase-3-Dependent Manner. Infect. Immun. 70 (7): 3673-3680.

Davids B. J., J.E. D. Palm, M. P. Housley, J. R. Smith, Y. S. Andersen, M. G. Martin, B. A. Hendrickson, Finn-Eirik J., S. G. Svard, Frances D. G., L. Eckmann. 2006. Polymeric Immunoglobulin Receptor in Intestinal Immune Defense Against the Lumen-Dwelling Protozoan Parasite *Giardia*. J. Immunol. 177: 6281- 6290.

Díaz E., Mondragon J., Ramirez E., Bernal R. 2003. Epidemiology and control of intestinal parasites with nitazoxanide in children in México. Am. J. Trop. Med. Hyg., 68 (4): 384-385.

DiMiceli L, MSPH, MT (ASCP). 2004. Distinguishing Between Pathogenic and Non-pathogenic Species of *Entamoeba*. Science. 35 (10) : 613-615.

Eckmann L. 2003. Mucosal defenses against *Giardia*. Parasite Immunol. 25: 259-270.

El-Gebaly N.S., Halawa E.F., Moussa H.M., Rabia I., Abu-Zekry M. Saliva and sera IgA and IgG in Egyptian *Giardia*-infected Children. Parasitol Res. 10. 1007/s00436-012-2869.

Farting, Michael J.G. 1997. Molecular pathogenesis of giardiasis. JPGN. 24 (1): 79-88.

Faubert.G. 2000. Immune response to *Giardia duodenalis*. Clin. Microbiol. Rev. 13 (1): 35-54.

Hasan S.M.T., M. Machee, O.M. Córdova, R. Díaz de la Guardia, M. Martins, A. Osuna. 2002. Human Secretory Immune Response to Fatty Acid-Binding Protein Fraction from *Giardia lamblia*. Infect Immun. 70 (4): 2226-2229.

James A. C., J. K. Beatty, A. G. Buret. 2011. Host parasite interactions and pathophysiology in *Giardia* infections. Int. J. Parasitol. 41: 925-933.

Langford T. D, M. P. Housley, M. Boes, J. Chen, M. F. Kagnoff, Frances D. G.L., Eckmann. 2002. Central Importance of immunoglobulin A in host defense against *Giardia* spp. Infect. Immun. 70 (1): 11-18.

Lars Eckmann. 2003. Mucosal Defenses Against *Giardia*. Parasite Immunol. 25 (5): 259-270.

Lee P., A. Abdul-Wahid, G. Faubert. 2011. Vaccination Against *Giardia*. Bio. Life Science. 4: 333-351.

Mustafa D., Namik D., Irfan A., Faruk O., Zafer Y. 2003. Serum iron, zinc and copper levels and lipid peroxidation in children with chronic giardiasis. J. H. Popul Nutr. 21 (1): 72-75.

Ping Zhou Erqiuhi, Nannan Zhu, Jason Robertson, Theodore E. Nash, Steven M. Singer. 2003. Role of interleukin-6 in the control of acute and chronic *Giardia lamblia* infections in mice. Infect. Immun. 71 (3): 1566-1568.

Quihui-Cota L., Astiazaran-Garcia H., Valencia Mauro E., Morales-Figueroa G.G., López-Mata M.A., Vazquez Ortiz F. 2008. Impac of *Giardia intestinalis* on vitamina A status in schoolchildren from northwest Mexico. IJVNAP. 78 (2):51-56.

Rashidul H. 2007. Human Intestinal Parasites. J. H. Popul Nutr. 25 (4): 387-391.

Rodney D. A. 2001. Biology of *Giardia lamblia*. Clin. Microbiol. Rev. 14 (3): 447-475.

Rodriguez OL., Hagel L., González Y., Roque ME., Vázquez N., López E., Di Prisco MC. 2004. Secretory IgA antibody response in venezuelan children infected with *Giardia duodenalis*. J. Trop. Pediatr. 50 (2): 68-72.

Saki J., Khademvatan J., Maraghi S., Soltani S., 2011. Serum lipid profiles and eosinophilia among *Giardia* cyst passers. Afr. J. Microbiol. Res. 5 (27): 4881-4884.

Saleh Ali Saleh A. 2010. Manifestaciones cutáneas de la giardiasis. Un problema de salud sobredimensionado. Inst. Med. Tropical.

Scott K. G. E., M.R. Logan, G. M. Klammer, D.A. Teoh, A.G. Buret. 2000. Jejunal brush border microvillous alterations in *Giardia muris* infected mice: Role of T lymphocytes and interleukin 6. Infect. Immun. 68 (6): 3412-3418.

Silva Y. Molla-Camarena, N. Sotelo, M. E. Valencia. 2002. Effects of asymptomatic *Giardia intestinales* infection on carbohydrate absorption in well-nourished Mexican children. Am. J. Trop. Med. Hyg. 66 (3): 255-259.

Singer S. M., T. E. Nash. 2000. T cell dependent control of acute *Giardia lamblia* infections in mice. Infect. Immun. 68 (1): 170-175.

Soliman MM., Taqhi-Kilani R., Abou-Shady AF., El-Mageid SA., Handousa AA., Hegazzi MM., Belocevic M. 1998. Comparison of serum antibody responses to *Giardia lamblia* of symptomatic and asymptomatic patients. Am. J. Trop. Med. Hyg. 58 (2): 232-239.

Stager S., Gottstein B., Muller N., 1997. Systemic and local antibody response in mice induced by and recombinant peptide fragment from *Giardia lamblia* variant surface protein (VSP) H7 produced by a *Salmonella typhimurium* vaccine strain. Int. J. Parasitol. 27(8): 965-971.

Stager S., Muller N., 1997. *Giardia lamblia* infections in B-cell-deficient transgenic mice. Infect. Immun. 65 (9): 3944-3946.

Torres M. F., A. P.T. Uetanabaro, A. F. Costa, C. A. Alves, L. M. Farias, E. A. Bampirra, F. J. Penna, E. C. Vieira, J. R. Nicoli. 2000. Influence of bacteria from the duodenal microbiota of patients with symptomatic giardiasis on the pathogenicity of *Giardia duodenalis* in genotoxenic mice. J. Med. Microbiol. 49. 209-215.

Vázquez Tsuji O., Campos Rivera T. 2009. Giardiasis. La parasitosis más frecuente al nivel mundial. C.I. La salle. 8 (31): 75-90.

www.sinave.gob.mx (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica)

Yahya G.S., Esraa A.M., Majida N.I. 2007. Effect of *Giardia lamblia* on some biochemical changes of the human. College Med. Univ. Kirkuk.

Faulkner C.T., Borrego-Garcia B., Logan M., New J. and Patton S. 2003. Prevalence of endoparasitic infection in children and its relation with cholera prevention efforts in Mexico. Pan. Am. J. Public Health. 14 (1)31-41

ANEXOS

Datos individuales del grupo control

Número	Linfocitos Totales cel/ μ L	% CD19FITC	Total de CD19+
1	3000	2.9	0.10
2	2600	3.0	0.12
3	2700	4.4	0.16
4	3000	8.2	0.27
5	2800	7.0	0.25
6	2700	7.0	0.26
7	2600	4.9	0.20
8	1700	8.1	0.50
9	1800	5.7	0.32
10	3300	5.3	0.16

KLIS I3753

Datos individuales del grupo 1(*Giardia lamblia*)

Número	Linfocitos Totales cel/ μ L	% CD19FIT C	Total de CD19+
1	2600	2.9	0.11
2	3200	2.4	0.08
3	5500	2.5	0.05
4	4900	2	0.04
5	4000	4.1	0.1
6	3000	6	0.2
7	3300	5.4	0.16
8	3500	5.3	0.15
9	2700	3.5	0.13
10	2700	3.7	0.14
11	3900	4	0.1
12	2700	5.3	0.2
13	2100	5.6	0.26
14	3300	5	0.15
15	3300	5.2	0.16
16	2800	5	0.18
17	2800	3	0.11
18	2200	4	0.18
19	2100	4.4	0.21
20	5500	6.3	0.12

Datos individuales del grupo 2
(*Giardia lamblia* y otros parásitos)

Número	Linfocitos Totales cel/μL	% CD19FITC	Total de CD19+
1	2200	5.9	0.27
2	2800	6.1	0.22
3	2900	2.1	0.07
4	3900	2.8	0.07
5	2400	4.9	0.20
6	4300	4.3	0.1
7	2200	1.3	0.06
8	2800	2.7	0.10
9	4000	2.7	0.07

Datos individuales del grupo 3 (*Endolimax nana*)

Número	Linfocitos totales cel/μl	% CD19+FITC	Total de CD19+
1	3700	5.0	0.14
2	2100	5.3	0.25
3	1900	9.3	0.50
4	3200	12.2	0.38
5	3300	6.8	0.21