



Tesis Doctoral

PROGRAMA DE DOCTORADO "PARASITOLOGÍA HUMANA Y ANIMAL"

Parasitismo intestinal en niños procedentes de islas ubicadas en la Nicaragua continental

Por

Jacklyn K. Comas Murillo

Directores

Dra. Carla Muñoz Antoli-Candela
Dr. J. Guillermo Esteban Sanchis

Julio, 2025





VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

TESIS DOCTORAL

**Parasitismo intestinal en niños procedentes
de islas ubicadas en la Nicaragua continental**

Por

Jacklyn K. Comas Murillo

Directores

Dra. Carla Muñoz Antoli-Candela

Profesora Titular de Parasitología

Departamento de Farmacia y Tecnología farmacéutica y Parasitología
Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Valencia

Dr. J. Guillermo Esteban Sanchis

Catedrático de Parasitología

Departamento de Farmacia y Tecnología farmacéutica y Parasitología
Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Valencia

Julio, 2025

Los abajo firmantes, Dra. CARLA MUÑOZ ANTOLI-CANDELA, Profesora Titular, y el Dr. JOSÉ GUILLERMO ESTEBAN SANCHÍS, Catedrático de Universidad, del Área de Parasitología del Departamento de Farmacia y Tecnología farmacéutica y Parasitología de la Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació de la Universitat de València, en su calidad de co-directora y director/tutor de la doctoranda Jacklyn Comas Murillo, por la presente

CERTIFICAN: que Dña. **JACKLYN COMAS MURILLO** ha realizado la Tesis Doctoral titulada "Parasitismo intestinal en niños procedentes de Islas ubicadas en la Nicaragua continental" en el Departamento de Farmacia y Tecnología farmacéutica y Parasitología de la de la Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació de la Universitat de València, con el fin de optar al grado de Doctora en Farmacia.

Y para que así conste a todos los efectos oportunos, firman la presente en Burjassot-Valencia a dieciséis de julio de dos mil veinticinco

CARLA TERESA
MUÑOZ ANTOLI-
CANDELA -
NIF:25403182G

Firmado digitalmente por
CARLA TERESA MUÑOZ
ANTOLI-CANDELA -
NIF:25403182G
Fecha: 2025.07.16 16:04:47
+02'00'

Fdo. Dra. Carla Muñoz-Antoli

Jose Guillermo
Esteban
Sanchis

Firmado digitalmente
por Jose Guillermo
Esteban Sanchis
Fecha: 2025.07.17
12:27:45 +02'00'

Fdo. Dr. J. Guillermo Esteban

A mi familia...

Con todo el amor del mundo.

Per aspera, ad astra

- A través del esfuerzo, el triunfo-

Séneca

Agradecimientos

Finalizada la presente Tesis Doctoral, quisiera expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que de una u otra forma estuvieron apoyándome en este largo y arduo proceso, algunos lo hicieron incluso desde la distancia.

Primero que todo, agradecer al Dr. *José Guillermo Esteban Sanchis*, por ser quien despertó en mí, el interés por la parasitología. Recuerdo que cuando vine a cursar el Máster en Enfermedades Parasitarias Tropicales no sabía ni tan siquiera usar el microscopio, ese no era mi campo de acción profesional y, a decir verdad, tampoco tuve mucho interés antes. Cuando empezamos el módulo de Coprología, era emocionante y retador encontrar algo (sin saber nada). Pero por fortuna, él tenía toda la paciencia del mundo para enseñar. El problema era que ya el tiempo se me pasaba volando y no me quería despegar del microscopio. Gracias por las enseñanzas, por abrirme las puertas para realizar el doctorado y recibirme en su equipo para desarrollar esta Tesis Doctoral.

A la Dra. *Carla Muñoz Antoli-Candela*, por ser mi guía y apoyo en todos y cada uno de los momentos (buenos y no tan buenos) de esta travesía que hoy llamo Tesis Doctoral, gracias por ser esa excelente profesional resolutiva y dinámica que inspira, por la dedicación y enorme paciencia que ha tenido conmigo en estos años (reitero, enorme paciencia), por la confianza depositada en mí, al permitirme participar en sus proyectos procesando y analizando muestras sin tener experiencia ni práctica. Recuerdo lo desastrosa fue mi primera tanda de Ritchie.

Gracias por impulsarme/animarme a participar en los congresos. Llevaba muy mal lo de preparar un tema y hablar en público. Fue gratificante y reconfortante haber sido premiada, sola no lo hubiese logrado. Gracias mil, por ser mi faro en la tormenta.

Al Dr. *David Carmena Jiménez* y su equipo de trabajo, por recibirme en el Instituto de Salud Carlos III con amabilidad, por su disposición para enseñar y ayudarme a tener una estancia amena y productiva. Gracias por el superpoder de supervisión (guiño) en el proceso de aprendizaje de técnicas moleculares, la facilidad que tiene para explicarlo todo de manera rápida y sencilla, hace parecer fácil lo complejo, más aún para una novata.

A la Dra. *Angela Cuesta Caicedo* y el grupo de investigación que lidera (Salud y Comunidad), por permitirme formar parte del mismo y mantener un vínculo con mi alma mater, la Universidad Tecnológica del Chocó Diego Luis Córdoba.

Al Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación de Colombia (Minciencias) por financiar mis estudios y mi estadía en el país de residencia de estudio. Una oportunidad que pocos pueden tener.

A mis compañeras de laboratorio y amigas *Paola Cociancic* y *Emma Fiallos*, por el apoyo incondicional, por la orientación y ayuda en temas académicos que me han brindado en esta curva de aprendizaje, sin dejar de lado el apoyo emocional. Bien sabido es, que hacer un Doctorado es toda una montaña rusa de emociones. Chicas... gracias mil, por estar, por recordarme que todo es pasajero, cada vez que entré en un bucle mental y emocional negativo porque no podía escribir un párrafo o porque había encontrado un error en una tabla/cálculo. Gracias por celebrar mis triunfos y reconfortarme en las tristezas, cuando sentí que la tesis me aplastaba.

A *Vero Prieto*, del equipo Catalinas que, aunque lleva mucho entre nosotras, lleva poco con nosotras, gracias por la complicidad y la chispa en esta “sociedad con ánimo de lucro”. Espero que en un futuro cercano podamos continuar con estas jornadas de trabajo que no parecen trabajo.

A ti, amiga/amigo que estas leyendo esto. Porque has hecho parte de esta etapa de mi vida, estuviste ahí, presencialmente o a través de un teléfono escuchándome quizás por horas, o leyéndome a través de una pantalla, sin importar el horario cuando la soledad me pesó, cuando la crisis migratoria pasó alguna temporada conmigo y se juntó con un poco de “no puedo con la tesis”, gracias por tu voz de apoyo y por tenerme presente en tus oraciones.

Y finalmente. A las personas más importantes en mi vida: mi familia. Papi y mami, esto es especialmente para ustedes, gracias por siempre apoyarme e impulsarme a ir por más, por no cortar mis alas cada vez que he querido volar fuera del nido. Han sido 4 años en los que han pasado tantas cosas, en los que me ha pesado la vida no poder estar con ustedes en muchas dificultades. Sé cuánto hubiesen deseado que yo estuviera allí para ayudarlos, a pesar de que no lo han dicho. 5 líneas dedicadas exclusivamente

a ustedes aquí, y mi corazoncito arrugado mientras las escribo. Los amo con mi vida entera.

A mis hermanos, sobrinos y sobrina, que siempre están allí para darme ánimos y para que me sienta acompañada, aún en la distancia. A mi tía “*Kelly*” como cariñosamente le hemos dicho toda la vida, que es como una segunda madre para mí, por tanto amor, por estar disponible al otro lado del teléfono escuchándome por horas y tener siempre las palabras adecuadas para subirme el ánimo, y como no, a mi pequeño peludo, mi apoyo emocional silencioso (a veces) que nunca va a leer esto, pero que también amo con el alma, mi Frodito que ha lamido cada lagrima de frustración y dolor, que ha sido el primero en ver mis ensayos de presentaciones, el que me hace salir a la calle sin querer, levantarme sin querer, y que todos los días tiene que soportar mis historias, mi fiel compañero de vida... ¡Los amo familia!

De verdad muchas gracias a todos, porque han sido parte importante en esta etapa de mi vida y seguramente lo serán el resto de mi vida.

Índice

Resumen	1
Objetivos	3
Capítulo 1.- Introducción	5
1.- Estado actual de conocimientos.....	5
1.1.- La situación de Nicaragua	7
1.2.- Parásitos comunes en Nicaragua: conceptos básicos	10
1.3.- Hipótesis de partida	21
Capítulo 2.- Material y métodos	23
2.- Procedencia del material estudiado: Nicaragua.....	23
2.1.- Departamento de Chinandega.....	26
2.1.1.- Isla de Corinto.....	27
2.2.- Departamento de Rivas	29
2.2.1.- Isla de Omepete.....	29
2.3.- Departamento de Rio San Juan.....	32
2.3.1.- Archipiélago de Solentiname.....	32
2.4.- Región Autónoma de la Costa Caribe Sur (RACCS)	33
2.4.1.- Rama Cay	34
2.4.2.- El Bluff.....	35
2.5.- Total material estudiado	36
2.6.- Consideraciones éticas.....	37
2.7.- Diseño del estudio	38
2.7.1.- Recolección de muestras y cuestionario epidemiológico.....	38
2.7.2.- Procesamiento muestras en terreno.....	40
2.7.2.1.- Técnica de Kato-Katz	41
2.7.2.2.- Fijación	42
2.7.2.3.- Filtración	43
2.7.2.4.- Transporte.....	43
2.7.3.- Procesamiento muestras en laboratorio UV	44
2.7.3.1.- Trabajo microscópico	44
A) Visión directa	44
B) Técnica de Formol-Acetato de Etilo	45
C) Tinción Ziehl-Neelsen modificado	46
D) Técnica de Mini-Flotac®	48
2.7.3.2.- Técnicas moleculares	50
A) Lavado.....	50
B) Concentración	50
C) Extracción y purificación ADN genómico	50
D) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	51
D.1.) Detección y caracterización de <i>Giardia duodenalis</i>	52
D.2.) Detección y caracterización de <i>Blastocystis</i> sp.	55
D.3.) Diagnóstico diferencial del complejo <i>Entamoeba</i>	55
D.4.) Detección y caracterización de <i>Cryptosporidium</i> sp.	55
D.5.) Detección y caracterización de <i>Cystoisospora</i> spp.	56

D.6.) Detección y caracterización de <i>Enterocytozoon bieneusi</i>	57
D.7.) Detección y caracterización de <i>Encephalitozoon spp.</i>	57
E) Electroforesis en gel de agarosa	57
F) Purificación ADN	59
G) Secuenciación Sanger	60
2.8.- Análisis estadístico	63
2.8.1.- Base de datos, tabulación y gráficos	63
2.8.2.- Tratamiento estadístico	63
2.8.2.1.- Estadística descriptiva	64
2.8.2.2.- Estadística inferencial	64
2.8.2.3.- Prueba de chi cuadrado (χ^2)	65
2.8.2.4.- Prueba <i>t</i> de student	65
2.8.2.5.- Tests no paramétricos	66

Capítulo 3.- Resultados 67

3.1.- En el conjunto de las islas	67
3.2.- En las diferentes islas	71
3.2.1.- Isla de Corinto (Departamento de Chinandega)	71
A) Espectro parasitario y prevalencias de parasitación	71
A.1) Por sexo	72
A.2) Por edad	73
B) Monoparasitismo y multiparasitismo	74
B.1) Por sexo	75
B.2) Por edad	75
3.2.2.- Isla de Ometepe (Departamento de Rivas)	76
A) Espectro parasitario y prevalencias de parasitación	76
A.1) Por sexo	78
A.2) Por edad	78
B) Monoparasitismo y multiparasitismo	81
B.1) Por sexo	81
B.2) Por edad	82
3.2.3.- Archipiélago de Solentiname (Departamento de Rio San Juan)	83
A) Espectro parasitario y prevalencias de parasitación	83
A.1) Por sexo	84
A.2) Por edad	84
B) Monoparasitismo y multiparasitismo	85
B.1) Por sexo	86
B.2) Por edad	86
3.2.4.- Isla de Rama Cay (Región Autónoma de la Costa Caribe Sur)	87
A) Espectro parasitario y prevalencias de parasitación	87
A.1) Por sexo	88
A.2) Por edad	89
B) Monoparasitismo y multiparasitismo	90
B.1) Por sexo	91
B.2) Por edad	91
3.2.5.- Isla de El Bluff (Región Autónoma de la Costa Caribe Sur)	92
A) Espectro parasitario y prevalencias de parasitación	92
A.1) Por sexo	92
A.2) Por edad	94
B) Monoparasitismo y multiparasitismo	95
B.1) Por sexo	96
B.2) Por edad	96

3.3.- Intensidad de parasitación por geohelminintos	97
3.3.1.- Clasificación de la clase de intensidad	98
..... 99	
3.4.- Diagnóstico a nivel molecular en la isla de Corinto	100
3.4.1.- Caracterización de <i>Giardia duodenalis</i>	100
3.4.2.- Caracterización de <i>Blastocystis</i> sp.	101
3.4.3.- Caracterización de <i>Cryptosporidium</i> spp.	103
3.4.4.- Caracterización de otras especies	103
3.4.5.- Diagnóstico diferencial del complejo <i>Entamoeba</i>	103
3.4.6.- Actualización del espectro parasitario y prevalencias totales de la isla de Corinto	104
3.5.- Variables relacionadas con la infección	105
3.5.1.- En relación con el binomio de especies patógenas/potencialmente patógenas	105
3.5.1.1.- Isla de Corinto	106
3.5.1.2.- Isla de Ometepe	107
3.5.1.3.- Archipiélago de Solentiname	108
3.5.1.4.- Isla de Rama Cay	108
3.5.1.5.- Isla de El Bluff	108
3.5.2.- En relación con la consistencia del material fecal	110
3.5.3.- En relación con las vías de transmisión	113
3.5.4.- En relación a la región geográfica	114
Capítulo 4.- Discusión..... 116	
4.1.- En relación al espectro parasitario y prevalencias de parasitación	116
4.1.1.- Espectro parasitario.....	116
4.1.2.- Prevalencias de parasitación	117
4.1.2.1.- Protistas: P/PP y C	118
4.1.2.2.- Esporas	119
4.1.2.3.- Helmintos	121
4.1.3.- Monoparasitismo y multiparasitismo.....	123
4.1.4.- Variable sexo y edad.....	123
4.1.5.- Variable zona geográfica	125
4.2.- En relación a los resultados moleculares en la isla de Corinto	130
4.2.1.- <i>Giardia duodenalis</i>	130
4.2.2.- <i>Blastocystis</i> sp.....	132
4.2.3.- Otros protistas	134
4.3.- En relación a los resultados de intensidad helmíntica	136
4.4.- En relación a variables de infección	138
4.5.- Limitaciones del estudio	141
4.6.- Líneas de trabajo futuras	142
Conclusiones..... 144	
Bibliografía 146	

Índice de tablas

Tabla 1. Recopilación de datos previos sobre protistas en poblaciones humanas, Nicaragua, 1992–2024.	11
Tabla 2. Recopilación de datos previos sobre helmintos intestinales en poblaciones humanas, Nicaragua, 1992–2024.	15
Tabla 3. Recopilación del material objeto del presente estudio, con detalle la procedencia, sexo y edad de la población infantil participante.	37
Tabla 4. Criterios de la O.M.S. para la clasificación de los niveles de intensidad de parasitación a partir de los huevos por gramo de heces en geohelmintos (hgh: huevos por gramo de heces) (Montresor et al., 1998).	42
Tabla 5. Recopilación de oligonucleótidos (sondas y cebadores) utilizados para la detección y/o caracterización molecular de las especies de protistas entéricos estudiadas. Fuente: Chozas et al. (2023).	53
Tabla 6. Espectro parasitario y prevalencias globales del estudio microscópico (*= <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> / <i>E. moshkovskii</i> ; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).	68
Tabla 7. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla Corinto (*= <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> / <i>E. moshkovskii</i> ; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).	72
Tabla 8. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla de Corinto por sexo (*= <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> / <i>E. moshkovskii</i> ; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).	73
Tabla 9. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla Corinto por edad (*= <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> / <i>E. moshkovskii</i> ; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).	74
Tabla 10. Monoparasitismo y multiparasitismo de la isla Corinto (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).	75
Tabla 11. Monoparasitismo y multiparasitismo por sexo en la isla Corinto (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).	75
Tabla 12. Monoparasitismo y multiparasitismo por edad en la isla Corinto (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).	76
Tabla 13. Espectro parasitario y prevalencias totales de la isla de Ometepe (*= <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> / <i>E. moshkovskii</i> ; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).	77
Tabla 14. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla de Ometepe por sexo (*= <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> / <i>E. moshkovskii</i> ; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).	79
Tabla 15. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla de Ometepe por edad (*= <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> / <i>E. moshkovskii</i> ; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).	80

Tabla 16. Monoparasitismo y multiparasitismo de la isla de Ometepe (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).	81
Tabla 17. Monoparasitismo y multiparasitismo por sexo en la isla de Ometepe (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; P- valor = valor estadístico).	82
Tabla 18. Monoparasitismo y multiparasitismo por edad en la isla Ometepe (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico).	82
Tabla 19. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación del Archipiélago de Solentiname (*= E. histolytica/ E. dispar/ E. moshkovskii; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).	83
Tabla 20. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación del Archipiélago de Solentiname por sexo (*= E. histolytica/ E. dispar/ E. moshkovskii; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico).	84
Tabla 21. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación del Archipiélago de Solentiname por edad (*= E. histolytica/ E. dispar/ E. moshkovskii; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico).	85
Tabla 22. Monoparasitismo y multiparasitismo del Archipiélago de Solentiname (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).	86
Tabla 23. Monoparasitismo y multiparasitismo por sexo del Archipiélago de Solentiname (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).	86
Tabla 24. Monoparasitismo y multiparasitismo por edad del Archipiélago de Solentiname (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).	87
Tabla 25. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación Rama Cay (*= E. histolytica/ E. dispar/ E. moshkovskii; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).	88
Tabla 26. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de Rama Cay por sexo (*= E. histolytica/ E. dispar/ E. moshkovskii; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico).	89
Tabla 27. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de Rama Cay por edades (*= E. histolytica/ E. dispar/ E. moshkovskii; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; P- valor = valor estadístico).	90
Tabla 28. Monoparasitismo y multiparasitismo de Rama Cay (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).	91
Tabla 29. Monoparasitismo y multiparasitismo por sexo en Rama cay (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico).	91
Tabla 30. Monoparasitismo y multiparasitismo por edad en Rama Cay (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico).	92
Tabla 31. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de El Bluff (*= E. histolytica/ E. dispar/ E. moshkovskii; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).	93

Tabla 32. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación El Bluff por sexo (*= <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> / <i>E. moshkovskii</i> , %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico).	94
Tabla 33. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de El Bluff por edades (*= <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> / <i>E. moshkovskii</i> ; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico).	95
Tabla 34. Monoparasitismo y multiparasitismo de El Bluff (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).	96
Tabla 35. Monoparasitismo y multiparasitismo por sexo en El Bluff (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico).	96
Tabla 36. Monoparasitismo y multiparasitismo por edad en El Bluff (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).	97
Tabla 37. Recuento de huevos por gramo de heces (hgh) por especie de geohelminos detectados: promedio, rango y mediana.	98
Tabla 38. Recuento de huevos por gramo de heces (hgh) de las especies de geohelminos detectados (promedio, rango y mediana) en cada una de las islas estudiadas y clase de Intensidad de parasitación de geohelminos según criterios de la OMS.	99
Tabla 39. Actualización del espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla Corinto con la aplicación del diagnóstico molecular (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).	104
Tabla 40. Binomio de especies patógenas y/o potencialmente patógenas detectadas en las muestras positivas.	106
Tabla 41. Binomio de especies patógenas y/o potencialmente patógenas detectadas en la isla de Corinto.	107
Tabla 42. Binomio de especies patógenas y/o potencialmente patógenas detectadas en la isla de Ometepe.	107
Tabla 43. Binomio de especies patógenas y/o potencialmente patógenas detectadas en el Archipiélago de Solentiname.	108
Tabla 44. Binomio de especies patógenas y/o potencialmente patógenas detectadas en la isla de Rama Cay.	109
Tabla 45. Binomio de especies patógenas y/o potencialmente patógenas detectadas en la isla de El Bluff.	109
Tabla 46. Especies P/PP detectadas en las heces según consistencia (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico).	112
Tabla 47. Espectro parasitario y prevalencias por regiones (p-valor entre total Región Pacífico y total Región Caribe).	126

Índice de abreviaturas

OMS: Organización Mundial de la Salud

USS: una sola salud

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

ST: subtipos

P/PP: especies Patógenas Potencialmente Patógenas

C: especies Comensales

ONU: Organización de las Naciones Unidas

ODS: Objetivos de Desarrollo Sostenibles

MINSA: Ministerio de Salud de Nicaragua

MINED: Ministerio de Educación de Nicaragua

PAI: Programa Ampliado de Inmunización

OPS: Organización Panamericana de la Salud

MC: microscopía convencional

ENT: enfermedades no transmisibles

CDC: Centers for Diseases Control and

INEC: Instituto Nacional de Estadística y Censos de Nicaragua

RACCN: Región Autónoma Costa Caribe Norte

RACCS: Región Autónoma Costa Caribe Sur

n: número de muestras

SM: San Martín (barrio de la isla de Corinto)

CH: El Chorizo (barrio de la isla de Corinto)

BN: Barrio Nuevo I (barrio de la isla de Corinto)

BNM: Barrio Nuevo II (barrio de la isla de Corinto)

BNP: Barrio Nuevo III (barrio de la isla de Corinto)

UNAN: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua

UV: Universidad de Valencia

hgh: huevos por gramo de heces

SF: solución flotante

NaCl: Cloruro de sodio

MF: materia fecal

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

qPCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real

ITS: espaciador transcrito interno

ssu rARN: ARN ribosómico de la subunidad menor de los ribosomas

SCSIE: Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental (servicio de la UV)

Ct: Ciclo umbral

gdh: glutamato deshidrogenasa (gen de *Giardia*)

tpi: fosfotransferasa de treonina (gen de *Giardia*)

bg: beta-giardina (gen de forma parte de la estructura del quiste de *Giardia*)

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

Resumen

Dejando atrás el enfoque epidemiológico clásico, la OMS promueve el enfoque "One Health" o "Una Sola Salud" (USS), que integra la salud humana, animal y ambiental, en estudios epidemiológicos orientados a mejorar la vigilancia y control de las enfermedades parasitarias. Abarcando el estudio de la situación actual en población infantil, como punto de partida, para futuros estudios más amplios y con muestras de diferentes orígenes, la presente Tesis Doctoral aborda la epidemiología de las parasitosis intestinales en 5 islas de Nicaragua (Corinto, Ometepe, Solentiname, Rama Cay y El Bluff), ubicadas en las regiones Pacífico y Caribe, para identificar especies, prevalencias e intensidades, relacionarlas con factores como edad y sexo, e incorporar diagnóstico molecular buscando especies y subtipos de interés zoonótico. Para ello se emplearon métodos coproparasitológicos tradicionales (Ritchie, Kato-Katz, Ziehl-Neelsen), junto con Mini-FLOTAC y métodos moleculares (PCR y secuenciación Sanger), que permitieron incrementar el espectro y corregir las prevalencias. Se detectó un espectro parasitario conformado por 17 especies, destacando 11 especies de protistas y 4 de helmintos, siendo el porcentaje total de infección de 68,8% (632/918) (61% protistas y 22% helmintos). Como dato curioso, en la Isla de Ometepe se identificaron, por primera vez en seres humanos de Nicaragua, 2 especies de esporas pertenecientes a los géneros *Myxobolus* spp. y *Henneguya* spp. parásitos típicos de peces, sugiriendo próximas investigaciones bajo el enfoque USS. Se detecta una amplia desigualdad de parasitación en ambas regiones, con porcentajes que oscilan entre el 57,6% en la isla de Ometepe (Pacífico) hasta el 95,4% en El Bluff (Caribe). En la región Pacífico dominan los protistas, especialmente *Blastocystis* sp. (llegando en Solentiname hasta 70,5%) y desaparecen prácticamente los helmintos. En la región Caribe las infecciones por helmintos son altamente prevalentes, con *Trichuris trichiura* dominando en la isla de El Bluff (78,8%) y *Ascaris lumbricoides* en la isla de Rama Cay (64,7%). Predomina el multiparasitismo, llegando a darse la coexistencia de 8 especies en un mismo individuo, que podría considerarse como un indicador indirecto de privación social y ambiental. El sexo masculino presentó mayores tasas de infección, posiblemente por mayor exposición al suelo durante juegos al aire libre. Los menores de 12-14 años fueron los más afectados, probablemente por mayor autonomía y exposición a riesgos ambientales. El uso de Mini-FLOTAC permitió determinar la intensidad leve de geohelmintos en la mayoría de islas, si bien, en la isla de Corinto y de Rama Cay se hallaron infecciones moderadas y severas por *T. trichiura* y *A. lumbricoides*, respectivamente, lo que podría reflejar procesos de reinfección y exposición continua a ambientes insalubres. A nivel molecular, se consiguió identificar

2 muestras con *Cryptosporidium hominis* y 4 muestras con *Entamoeba dispar*. Asimismo, se revelaron subtipos de *Blastocystis* sp. ST1 (64,3%; 9/14), ST2 (75%; 3/4), ST3 (75%; 3/4) y ST7 (100%; 1/1), siendo este último de posible origen zoonótico (aves), y se identificó mayoría de *asseblage* B (27,3%; 3/11) de *Giardia duodenalis*, indicando transmisión mayoritariamente antroponótica. Un 69,9% de los infectados presentaban especies patógenas o potencialmente patógenas (P/PP), siendo la combinación más común *Blastocystis* sp. + *T. trichiura*. No se encontró una asociación clara entre consistencia de las heces y parasitación, salvo en el caso de *A. lumbricoides*, presente en todas las muestras con heces líquidas. La vía fecal-oral fue la principal forma de transmisión en el 94% de los casos, resaltando la urgencia de mejorar el acceso a agua potable y saneamiento. De este trabajo se deduce que la insularidad no reduce cualitativamente el espectro existente en las islas estudiadas y que aparece un predominio de especies protistas, con predominio de *Blastocystis* sp., quizás demostrando un éxito parcial en las campañas antihelmínticas. Además, se detecta una alta prevalencia de geohelminchos y multiparasitismo, especialmente en zonas rurales e indígenas del Caribe. Para clasificar la intensidad de infección helmíntica en muestras fecales fijadas resultó muy útil la técnica Mini-FLOTAC. Este estudio enfatiza la urgencia de futuros estudios e intervenciones sanitarias, educativas y epidemiológicas enfocadas en las comunidades rurales insulares más vulnerables de Nicaragua, especialmente en la región Caribe, bajo una perspectiva USS.

Palabras clave: parasitosis intestinales; protistas; helmintos; epidemiología, Nicaragua



Objetivos

Objetivos

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el estudio piloto llevado a cabo previamente en población insular de Corn Island (Nicaragua) (Muñoz-Antoli *et al.*, 2018b), y con la hipótesis de partida de descifrar si la insularidad influye en el espectro parasitario y las prevalencias de parasitación, el objetivo general de esta Tesis Doctoral se centra en completar el estudio epidemiológico de las parasitosis intestinales en población infantil abarcando el resto de islas nicaragüenses existentes, tanto en región Pacífico como en región Caribe, mediante un diagnóstico adecuado que permita facilitar la aplicación de correctas medidas de control, prevención y tratamiento de las enteroparasitosis detectadas, para colaborar en la mejora del estado de salud de la población estudiada.

Este objetivo general se alcanza de acuerdo a los siguientes objetivos específicos:

1. Detectar el espectro parasitario en menores de 15 años de las islas a través de la búsqueda, detección y reconocimiento de las distintas especies parásitas intestinales y detectar las prevalencias de parasitación total, por grupos parasitarios, y por cada una de las especies halladas;
2. Relacionar los porcentajes de parasitación con variables epidemiológicas, como el sexo y la edad, así como la procedencia geográfica y, analizar los casos de monoparasitismo y multiparasitismo junto con las asociaciones existentes dentro de las diferentes especies parásitas;
3. Conocer la intensidad de parasitación de los geohelminthos para poder clasificar los niveles de intensidad según criterios de la OMS;
4. Identificar molecularmente los genotipos de *Giardia duodenalis* y los subtipos de *Blastocystis* sp. presentes en la población insular de Corinto para determinar el potencial zoonótico de las infecciones detectadas.

Para alcanzar estos objetivos, la presente Tesis Doctoral se ha dividido en los siguientes capítulos:

- En el primer capítulo se ofrece una introducción y estado actual de conocimientos sobre los parásitos intestinales descritos en Nicaragua y se comenta la hipótesis del presente trabajo;
- En el segundo capítulo se describe los materiales utilizados, detallando cada comunidad insular integrante del estudio, y los métodos empleados de diagnóstico directo como de índole molecular, junto con el tratamiento y análisis de los datos;
- En el tercer capítulo se ha expuesto todos los resultados obtenidos, que incluyen espectro y prevalencia de parasitación, multiparasitismo, intensidades de infección, análisis de las posibles asociaciones y resultados del diagnóstico molecular;
- En el cuarto capítulo se ha procedido a la discusión de los resultados obtenidos contrastándolos con los de otros autores.

Finalmente, se incluye una relación detallada de las principales conclusiones y de las referencias bibliográficas consultadas y empleadas durante la preparación y redacción de la presente Tesis Doctoral.



Capítulo 1.- Introducción

Capítulo 1.- Introducción

1.- Estado actual de conocimientos

Las enfermedades parasitarias son un problema de salud pública de gran envergadura a nivel mundial que afecta principalmente a países de baja renta. Las vulnerabilidades socioeconómicas y las variables ambientales influyen en el contagio de estas enfermedades, siendo la población infantil la más afectada (Quihui *et al.*, 2006; Cañete *et al.*, 2012; Lustigman *et al.*, 2012; Garbossa *et al.*, 2013; Magalhães *et al.*, 2023).

La Organización de las Naciones Unidas (ONU), en el año 2015 aprobó la agenda 2030 sobre el desarrollo sostenible que pretende mejorar la calidad de vida de las personas. Esta agenda cuenta con 17 objetivos de desarrollo sostenible (ODS), que establecen que la erradicación de la pobreza debe ir de la mano de estrategias que aborden una serie de necesidades sociales como lo son: salud, educación de calidad, protección social, agua limpia y saneamiento (ONU, 2015). Todos los países de baja renta se enfrentan a diario con estos desafíos.

No se puede pretender tener buena salud sin contar con algo básico como lo es el acceso al agua potable, que es una de las fuentes principales de infecciones gastrointestinales y transmisión zoonóticas, sobre todo en las comunidades más empobrecidas de estos países (Garbossa *et al.*, 2013). Según informa la Organización Mundial de la Salud (OMS), la salud de las personas, animales y ecosistemas están interrelacionadas, los cambios en estas relaciones pueden aumentar el riesgo de aparición y propagación de nuevas enfermedades en seres humanos y animales, más aún, teniendo en cuenta que aproximadamente el 60% de las enfermedades infecciosas emergentes que se registran a nivel mundial, proceden de animales (tanto salvajes como domésticos) (OMS, 2023).

Teniendo en cuenta esto, se ha implementado un concepto que cada día cobra mayor relevancia y es la estrategia conocida como “*One Health*”, en español “Una Sola Salud” (USS), que es un enfoque diseñado para integrar y unificar de forma equilibrada la salud tanto de seres humanos, los animales y el ecosistema, y establecer nuevos métodos de vigilancia y control de enfermedades/infecciones (Manterola *et al.*, 2024). Vale la pena destacar que la aplicación de dichas estrategias se realizará en función de la problemática que afecta a cada población y en función del medio/terreno.

En lo que respecta a parásitos intestinales, según un informe de la OMS, se estima que aproximadamente 450 millones de niños a nivel mundial padecen alguna enfermedad parasitaria intestinal y más de 800 millones corren el riesgo de padecerla (OMS, 2022).

En América Latina donde lo más frecuente son las parasitosis de este tipo, sumado a las carencias en cuanto al acceso a los servicios de salud, en algunas regiones específicas constituyen la realidad de la población. Sus características socio-sanitarias y económicas intervienen en la distribución y transmisión parasitaria, contribuyendo a escenarios epidemiológicos únicos, donde lograr la prevención, control y erradicación de estas enfermedades con prevalencias tan elevadas como las que se suelen presentar es complejo, más, teniendo en cuenta los múltiples factores que favorecen la persistencia de estas infecciones sobre todo en la población infantil (Saboyá *et al.*, 2013; Muñoz-Antoli *et al.*, 2014). En toda América Latina y el Caribe, se estima que al menos 13,9 millones de niños en edad preescolar y 35,4 millones de niños en edad escolar se encuentran en riesgo de padecer infecciones por alguna especie de geohelminto (Saboyá *et al.*, 2013; OMS, 2022).

A pesar que las infecciones parasitarias gastrointestinales generalmente no ponen en peligro la vida, provocan desnutrición lo cual influye en la respuesta inmunitaria y, además, tienen una gran implicación en el desarrollo físico y cognitivo de los menores (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017). La diarrea ocasionada por infecciones parasitarias, causante de desnutrición y asociada al retraso en el crecimiento en la primera infancia, está mucho más relacionada con especies parásitas identificadas como patógenas como es el caso de *Cryptosporidium* spp. y *Giardia duodenalis* (Berkman *et al.*, 2002; de Lucio *et al.*, 2016) Asimismo, cabe comentar que otras especies, como *Cystoisospora belli*, que también se sabe pueden ser causantes de patologías gastrointestinales relacionada con el estado inmunológico del individuo, no han sido ampliamente estudiadas en países latinoamericanos. De igual forma, en el caso de los microsporidios, se sabe que son un grupo de parásitos intracelulares formadores de esporas, que pueden infectar a un amplio rango de hospedadores, incluido el ser humano. Los casos más comúnmente descritos en seres humanos incluyen *Enterocytozoon bieneusi* y *Encephalitozoon* spp. (Ávalos *et al.*, 2024), aunque no se dispone de información detallada que permita ampliar los conocimientos. Sin embargo, también hay evidencia de que son capaces de causar cuadros patológicos que van más allá de síntomas gastrointestinales puesto que también guardan relación con el estado inmunológico. Cabe comentar que la identificación de estos últimos está basada principalmente en el diagnóstico molecular, lo que hace aún más difícil su estudio de forma rutinaria principalmente en países de baja renta que son los más azotados por estas parasitosis.

Con respecto a los helmintos, en países latinoamericanos, como se ha comentado anteriormente, las condiciones socio-económicas y socio-sanitarias son deficientes, por lo que las infecciones causadas por helmintos transmitidos por el suelo (geohelmintos) son las que mayor prevalencia registran, causando patologías gastrointestinales e incluso anemia grave (OMS, 2022). Las especies que principalmente afectan a la población son *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides* y ancilostómidos. Según información que se recoge de la página de la OMS, se estima que aproximadamente el 24% de la población mundial se encuentra infectada con geohelmintos y cerca de 46 millones de menores entre 1 y 14 años están en riesgo de padecerlos (Saboyá *et al.*, 2013; OMS, 2022).

1.1.- La situación de Nicaragua

Nicaragua es un país tropical de América central, considerado como uno de los países más pobres de América Latina. Según el Programa Mundial de Alimentos en Nicaragua, el reporte del estado sobre la seguridad alimentaria y nutricional, en el informe 2020-2022, dice que, aproximadamente el 24,9% de las familias viven en la pobreza y más del 8% en pobreza extrema, siendo la agricultura y la pesca la principal fuente de ingresos y sustento alimenticio de estas poblaciones. Existe estrecha relación entre las dificultades económicas de este país y la falta de compromiso con la población por parte de los dirigentes actuales, lo que se ve reflejado en la carencia de infraestructuras adecuadas de saneamiento ambiental, insuficiencias en los servicios de salud y el acceso a éstos. Asimismo, las marcadas desigualdades sociales y culturales, hace de este país una región endémica para las infecciones parasitarias (FWP,2023).

Nicaragua está dividido en 3 regiones (Pacífico, central y Caribe). La región central, caracterizada por ser muy montañosa, con muchas áreas verdes y reservas naturales, es considerada como el granero del país, ya que se ve favorecida por un clima muy agradable apto para el cultivo del café. De momento, dado que se carece de información epidemiológica relativa a parásitos intestinales en esta región central del país, no se tendrá en cuenta a lo largo de este trabajo.

Las regiones costeras (Pacífico y Caribe) conforman aproximadamente el 46% de la población total. La región Pacífico destaca por ser una zona volcánica con un clima tropical de monzón que además cuenta con uno de los lagos más grandes del mundo, convirtiendo esta región en un lugar húmedo lo cual beneficia la proliferación de algunas especies parásitas principalmente protistas, donde los estudios llevados a cabo hasta la

fecha en población infantil refieren prevalencias que alcanzan hasta un 77% (Muñoz-Antoli *et al.*, 2024).

Con respecto a la región Caribe, presenta extensos bosques, lo que le otorga reconocimiento como la segunda selva más grande del continente. Cuenta con grandes ríos que desembocan en el mar Caribe. Presenta un clima tropical más variado, descrito como clima de selva tropical, lo que hace que el terreno sea aún más húmedo que en la región Pacífico comentada anteriormente. Así en esta zona, donde ocurren muchas más precipitaciones anuales y donde el 45% de la población vive en zonas rurales, se contribuye enormemente a la proliferación de ciertas especies parásitas, principalmente geohelminths, donde la tasa de infección reportada en los estudios llevados a cabo hasta la fecha, refieren prevalencias que alcanzan hasta un 72% (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017).

Estos elevados porcentajes vienen a demostrar que Nicaragua se encuentra ampliamente azotado por infecciones parasitarias intestinales a lo largo y ancho del país. Así, una recopilación de los estudios que se han realizado en el país, llevados a cabo en las regiones Pacífico y Caribe en los últimos 30 años (1992-2024) (**Tabla 1 y Tabla 2**), demuestra la situación actual, evidenciando altas prevalencias de parasitación intestinal (Cavuoti y Lancaster, 1992; Téllez *et al.*, 1997; Oberhelman *et al.*, 1998; Téllez *et al.*, 2005; Leiva *et al.*, 2006; Lebbad *et al.*, 2008; Rosewell *et al.*, 2010; Muñoz-Antoli *et al.*, 2011, 2014; Becker-Dreps *et al.*, 2015; Muñoz-Antoli *et al.*, 2017, 2018 a,b; Gozalbo *et al.*, 2021; Muñoz-Antoli *et al.*, 2022; Gutiérrez *et al.*, 2024; Muñoz-Antoli *et al.*, 2024).

Basados en estos resultados y en información obtenida del Ministerio de Salud de Nicaragua (MINSa), se sabe que, en el país se han llevado a cabo diversas campañas de desparasitación antihelmíntica. Las primeras de las que se tiene conocimiento, son las realizadas a partir de los años 90, donde se hacían jornadas de desparasitación masiva en escuelas en conjunto con el Ministerio de Educación (MINED) de manera anual. Sin embargo, a partir de los años 2000, se aprovechaba las jornadas de vacunación anuales para suministrar desparasitantes a la población infantil. Cabe resaltar que el Programa Ampliado de Inmunización (PAI) tiene una cobertura en menores de hasta los 5 años, por tanto, podría asumirse que una gran parte de la población infantil quedaría exenta de la quimioprofilaxis.

En el año 2012, en el marco del establecimiento de hoja de ruta para eliminación de las helmintiasis, se realizó una campaña de desparasitación masiva con albendazol que fue donado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS). A pesar de los esfuerzos, y, al persistir las prevalencias de parasitación elevadas, en el año 2014 se realizó un

estudio de eficacia de tratamiento a nivel nacional, pues se pensó que los medicamentos que se administraban no estaban siendo eficaces. Sin embargo, el resultado evidenció que la falta de éxito se debía a deficientes condiciones higiénico-sanitarias y de saneamiento ambiental.

Vale la pena destacar que pese a las dificultades que se presentan en el país en materia de salud y prevención de las parasitosis, en el año 2017, Nicaragua tenía el 75% de quimioprofilaxis administrada en niños menores de 5 años, según información que se recoge en los Objetivos para 2030 para programas de control de las geohelmintiasis (OMS, 2022). Posteriormente, a finales del 2020, se llevó a cabo la última campaña nacional de desparasitación, la cual iba dirigida a menores de entre 1 y 12 años de edad. Sin embargo, como se puede observar en la **Tabla 1 y Tabla 2** las parasitaciones intestinales continúan siendo un problema persistente que, a pesar de las acciones y estrategias de prevención y control que se llevan a cabo, comentadas anteriormente, no se consigue alcanzar un cambio realmente significativo en la lucha contra las parasitosis, puesto que se mantienen en la actualidad. Además, la mayoría de especies detectadas se desarrollan a través de ciclos monoxenos, lo que explicaría que los menores infectados, con o sin manifestaciones clínicas, actuarían como diseminadores de las formas infectantes, de forma inadvertida, lo que supondría el mantenimiento del riesgo de infección para el resto de la población. Epidemiológicamente, se demuestra la importancia de unas condiciones de vida salubres junto con la adecuación de medidas higiénicas personales y ambientales necesarias para evitar la transmisión de estas especies, condiciones que no se cumplen en las regiones estudiadas de Nicaragua.

Así, las infecciones por especies de protistas, son significativamente más prevalentes que las de helmintos. Concretamente, en los estudios previos llevados a cabo en Nicaragua se ha identificado un total de 15 especies de protistas (**Tabla 1**) y de 9 especies de helmintos intestinales (**Tabla 2**). Dentro de los protistas las especies más comunes encontradas han sido *Blastocystis* sp. (con porcentajes que oscilan entre el 33% y el 78%), *Giardia duodenalis* (con porcentajes que oscilan entre el 4% y el 59%) y complejo *Entamoeba* (con porcentajes que oscilan entre el 6% y el 18,6%). Entre las especies de helmintos, los más comunes que se han encontrado han sido *T. trichiura* (con porcentajes que oscilan entre 4% y 56%) y *A. lumbricoides* (con porcentajes que oscilan entre el 1% y el 37%).

La mayoría de los estudios previos referidos en la **Tabla 1 y Tabla 2** se basan en métodos convencionales de diagnóstico microscópico (81,3%; 13/16), en población infantil (68,8%; 11/16) y, centrados en ciertas regiones del país, como el departamento de León (31,25%; 5/16).

La incorporación de métodos moleculares, así como, el aumento de estudios epidemiológicos en otras regiones del país azotadas por situaciones socioeconómicas, medio ambientales e higiénico-sanitarias favorables para la transmisión parasitaria, podría complementar y mejorar la medida del impacto de estas infecciones en el país, posibilitando el aumento del espectro parasitario detectable, así como de los porcentajes reportados.

1.2.- Parásitos comunes en Nicaragua: conceptos básicos

De forma resumida, y muy brevemente a modo de recordatorio en este capítulo de introducción, cabría abordar una rápida caracterización de las especies más comúnmente encontradas previamente en Nicaragua (**Tabla 1 y 2**), con breves nociones básicas de sus características morfológicas, vías de transmisión, clínica y su tratamiento recomendado:

***Blastocystis* sp.**

Se trata de un protista entérico cosmopolita que aparece en el tracto gastrointestinal y cuyos aislados se denominan subtipos ST, actualmente identificados ST44 (Santin *et al.*, 2024). Presenta una gran variedad de aspectos morfológicos, siendo las formas vacuolares las más frecuentes en muestras fecales (Zhang *et al.*, 2007). La transmisión humana se relaciona con la vía fecal-oral junto con los reservorios animales (Parkar *et al.*, 2010).

Igualmente, ha sido reportado tanto en individuos asintomáticos a nivel mundial (Tito *et al.*, 2019) como asociado a trastornos intestinales varios (diarrea, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, etc.) y manifestaciones extraintestinales (urticaria y anemia ferropénica) (Bahrami *et al.* 2020).

El fármaco de primera línea para tratar *Blastocystis* sp. es el metronidazol (Nigro *et al.*, 2003) aunque su administración se limita a casos asociados a diarrea persistente en ausencia de otro patógeno.

Tabla 1. Recopilación de datos previos sobre protistas en poblaciones humanas, Nicaragua, 1992–2024.

Población	Ubicación	Método de detección	Muestras (Nº)	Especies de parásito	Tasa de infección (%)	Genotipo (n)	Referencia
Infantil	Corn Island	MC	249	<i>Blastocystis</i> sp.	40,6	–	Cavuoti y Lancaster., 1992
Comunidad	León	MC	1247	Complejo <i>Entamoeba</i> ^a	16,1	–	Téllez <i>et al.</i> , 1997
				<i>Giardia duodenalis</i>	24,1	–	
				Complejo <i>Entamoeba</i>	18,6	–	
Infantil	Carazo	MC	961	<i>Giardia duodenalis</i>	15,9	–	Oberhelman <i>et al.</i> , 1998
				<i>Entamoeba histolytica</i>	0,1	–	
				<i>Giardia duodenalis</i>	29,1	–	
Mujeres lactantes	León	IFA, WB	100	<i>Iodamoeba bütschlii</i>	0,2	–	Téllez <i>et al.</i> , 2005
Pacientes con diarrea	León	MC	134	<i>Giardia duodenalis</i>	52-59	–	
				<i>Blastocystis</i> sp.	32,8	–	
				Complejo <i>Entamoeba</i> ^a	6,0	–	
				<i>Cryptosporidium</i> spp.	0,7	–	
				<i>Cyclospora cayetanensis</i>	2,2	–	
		PCR		<i>Cystoisospora belli</i> ^b	0,7	–	
				<i>Dientamoeba fragilis</i>	0,7	–	
				<i>Endolimax nana</i>	17,2	–	
				<i>Entamoeba coli</i>	10,4	–	
				<i>Giardia duodenalis</i>	16,4	–	
<i>Entamoeba dispar</i>	7,5	–					
<i>Entamoeba histolytica</i>	1,5	–					

Varios	León	PCR-RFLP	112 ^c	<i>Giardia duodenalis</i>	–	A (24), B (88)	Lebbad <i>et al.</i> , 2008
Infantil	Río San Juan	PCR	272	<i>Cryptosporidium</i> spp.	35,7	<i>C. parvum</i> (97)	Muñoz-Antoli <i>et al.</i> , 2011
Infantil	Río San Juan	MC	382	<i>Blastocystis</i> sp.	77,7	–	Muñoz-Antoli <i>et al.</i> , 2014
				Complejo <i>Entamoeba</i> ^a	15,2	–	
				<i>Cryptosporidium</i> spp.	14,9	–	
				<i>Chilomastix mesnili</i>	1,6	–	
				<i>Endolimax nana</i>	34,8	–	
				<i>Entamoeba coli</i>	29,8	–	
				<i>Entamoeba hartmanni</i>	21,5	–	
				<i>Giardia duodenalis</i>	32,5	–	
				<i>Iodamoeba bütschlii</i>	5,2	–	
Infantil	León	MC	25	Complejo <i>Entamoeba</i> ^a	12,0	–	Becker-Dreps <i>et al.</i> , 2015
				<i>Cryptosporidium</i> spp.	4,0	–	
				<i>Giardia duodenalis</i>	4,0	–	
Infantil	Laguna de Perlas	MC	402	<i>Blastocystis</i> sp.	58,1	–	Muñoz-Antoli <i>et al.</i> , 2017
				Complejo <i>Entamoeba</i>	7,5		
				<i>Chilomastix mesnili</i>	3,2	–	
				<i>Endolimax nana</i>	23,1	–	
				<i>Entamoeba coli</i>	24,9	–	
				<i>Entamoeba hartmanni</i>	22,5	–	
				<i>Giardia duodenalis</i>	17,4	–	
				<i>Iodamoeba bütschlii</i>	1,8	–	
Infantil	Various	MC	1217	<i>Blastocystis</i> sp.	45,5	–	Muñoz-Antoli <i>et al.</i> , 2018 a
				Complejo <i>Entamoeba</i> ^a	6,2		
				<i>Cryptosporidium</i> spp.	0,3	–	

Infantil	Managua	MC	1936	<i>Chilomastix mesnili</i>	3,7	–	Gozalbo et al., 2021
				<i>Dientamoeba fragilis</i>	0,1	–	
				<i>Endolimax nana</i>	14,5	–	
				<i>Entamoeba coli</i>	21,1	–	
				<i>Entamoeba hartmanni</i>	10,1	–	
				<i>Enteromonas hominis</i>	0,1	–	
				<i>Giardia duodenalis</i>	31,7	–	
				<i>Iodamoeba bütschlii</i>	2,6	–	
				<i>Retortamonas intestinalis</i>	0,4	–	
				<i>Blastocystis</i> sp.	48,6	–	
				Complejo <i>Entamoeba</i> ^a	11,0	–	
				<i>Cryptosporidium</i> spp.	0,3	–	
				<i>Chilomastix mesnili</i>	1,8	–	
				<i>Endolimax nana</i>	21,0	–	
				<i>Entamoeba coli</i>	29,0	–	
Infantil	Puerto Cabezas, Siuna	MC	735	<i>Entamoeba hartmanni</i>	12,2	–	Muñoz-Antoli et al., 2022
				<i>Enteromonas hominis</i>	0,7	–	
				<i>Giardia duodenalis</i>	25,1	–	
				<i>Iodamoeba bütschlii</i>	5,6	–	
				<i>Retortamonas intestinalis</i>	0,2	–	
				<i>Balantioides coli</i> ^d	0,1	–	
				<i>Blastocystis</i> sp.	75,0	–	
				Complejo <i>Entamoeba</i> ^a	15,8	–	
				<i>Cryptosporidium</i> spp.	0,1	–	
				<i>Chilomastix mesnili</i>	2,5	–	
				<i>Endolimax nana</i>	34,8	–	
				<i>Entamoeba coli</i>	41,6	–	
				<i>Entamoeba hartmanni</i>	17,6	–	

Pacientes ENT ^e	Masaya	MC, PCR	157	<i>Giardia duodenalis</i>	45,3	–	Muñoz-Antoli <i>et al.</i> , 2024
				<i>Iodamoeba bütschlii</i>	3,0	–	
				<i>Blastocystis</i> sp.	42,0	ST1 (9), ST2 (2), ST3 (3)	
				<i>Endolimax nana</i>	20,4	–	
				<i>Entamoeba coli</i>	21,7	–	
				<i>Entamoeba dispar</i>	5,1	–	
Infantil	León	PCR	443	<i>Giardia duodenalis</i>	1,2	BIII (2)	Gutiérrez <i>et al.</i> , 2024
				<i>Giardia duodenalis</i>	15,6	–	

MC: Microscopía convencional; IFA: Ensayo por Inmunofluorescencia; PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa; PCR-RFLP: Reacción en Cadena de la Polimerasa- Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción; WB: Western Blot.

^a Complejo *Entamoeba*: *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*/*Entamoeba moshkovskii*

^b Anteriormente conocido como: *Isospora belli*.

^c Estudios realizados con muestras positivas para *Giardia*.

^d Anteriormente conocido como: *Balantidium coli* o *Neobalantidium coli*.

^e ENT: Enfermedades No Transmisibles (asma, diabetes, hipertensión).

Tabla 2. Recopilación de datos previos sobre helmintos intestinales en poblaciones humanas, Nicaragua, 1992–2024.

Población	Ubicación	Método de detección	Muestras (n)	Especies de parásito	Tasa de infección (%)	Referencias
Infantil	Corn Island	MC	249	Ancilostómidos	6,8	Cavuoti y Lancaster, 1992
Comunidad	León	MC	1247	<i>Ascaris lumbricoides</i>	15,7	Téllez <i>et al.</i> , 1997
				<i>Trichuris trichiura</i>	32,9	
				<i>Strongyloides</i> spp.	4,4	
				Ancilostómidos	0,4	
Infantil	Carazo	MC	961	<i>Ascaris lumbricoides</i>	13,4	Oberhelman <i>et al.</i> , 1998
				<i>Strongyloides</i> spp.	0,3	
				<i>Ascaris lumbricoides</i>	7,5	
				Ancilostómidos	0,1	
Pacientes con diarrea	León	MC	134	<i>Ascaris lumbricoides</i>	7,5	Leiva <i>et al.</i> , 2006
				<i>Trichuris trichiura</i>	3,8	
				<i>Strongyloides stercoralis</i>	0,2	
				<i>Ascaris lumbricoides</i>	3,7	
Infantil	Various	MC	880	<i>Hymenolepis nana</i>	6,0	Rosewell <i>et al.</i> , 2010
				<i>Trichuris trichiura</i>	5,2	
				Ancilostómidos	1,4	
				<i>Ascaris lumbricoides</i>	20,7	
				<i>Trichuris trichiura</i>	34,7	

Infantil	Río San Juan	MC	382	Ancilostómidos	18,6	Muñoz-Antoli <i>et al.</i> , 2014
				<i>Ascaris lumbricoides</i>	20,9	
				<i>Enterobius vermicularis</i>	0,5	
				<i>Hymenolepis nana</i>	2,4	
				<i>Trichuris trichiura</i>	43,2	
				<i>Strongyloides stercoralis</i>	1,0	Muñoz-Antoli <i>et al.</i> , 2017
Infantil	Laguna de Perlas	MC	402	Ancilostómidos	12,7	
				<i>Ascaris lumbricoides</i>	27,1	
				<i>Enterobius vermicularis</i>	0,7	
				<i>Hymenolepis diminuta</i>	0,2	
				<i>Trichuris trichiura</i>	72,4	Muñoz-Antoli <i>et al.</i> , 2018 a
Infantil	Various	MC	1217	Ancilostómidos	0,4	
				<i>Ascaris lumbricoides</i>	5,2	
				<i>Enterobius vermicularis</i>	0,1	
				<i>Hymenolepis diminuta</i>	0,1	
				<i>Hymenolepis nana</i>	1,9	Muñoz-Antoli <i>et al.</i> , 2018 b
				<i>Trichostrongylus</i> sp.	0,1	
				<i>Trichuris trichiura</i>	8,2	
				<i>Strongyloides stercoralis</i>	0,2	
Infantil	Corn Island	MC	341	Ancilostómidos	10,6	
				<i>Ascaris lumbricoides</i>	19,9	
				<i>Hymenolepis nana</i>	1,8	
				<i>Trichuris trichiura</i>	49,8	

Infantil	Managua	MC	1936	Ancilostómidos	0,5	Gozalbo <i>et al.</i> , 2021
				<i>Ascaris lumbricoides</i>	2,3	
				<i>Enterobius vermicularis</i>	0,1	
				<i>Hymenolepis diminuta</i>	0,1	
				<i>Hymenolepis nana</i>	2,5	
				<i>Taenia</i> spp.	0,1	
				<i>Trichostrongylus</i> sp.	0,1	
				<i>Trichuris trichiura</i>	4,8	
				<i>Strongyloides stercoralis</i>	0,1	
Infantil	Puerto Cabezas, Siuna	MC	735	Ancilostómidos	9,9	Muñoz-Antoli <i>et al.</i> , 2022
				<i>Ascaris lumbricoides</i>	36,9	
				<i>Hymenolepis nana</i>	4,2	
				<i>Taenia</i> spp.	0,1	
				<i>Trichuris trichiura</i>	56,3	
				<i>Strongyloides stercoralis</i>	0,4	
Pacientes ENT ^a	Masaya	MC	157	<i>Ascaris lumbricoides</i>	0,6	Muñoz-Antoli <i>et al.</i> , 2024

MC: Microscopía convencional.

^a ENT: Enfermedades No Transmisibles (asma, diabetes, hipertensión).

Giardia duodenalis

Se trata de un protista flagelado entérico causante de la giardiosis, que sigue suponiendo un serio problema de salud pública en países de alta endemicidad (Pires *et al.*, 2015).

La variabilidad genética de *G. duodenalis*, única especie infectiva para los seres humanos, incluye 8 ensamblajes que van desde el A hasta el H, cada uno con sus especificidades de hospedador, virulencia y distribución geográfica. De todos los ensamblajes, el A y el B son los más frecuentes en los seres humanos demostrando potencial zoonótico, presentándose también en animales (Ryan y Cacciò, 2013). Cabe recordar también que estos ensamblajes se encuentran divididos en 4 sub-ensamblajes cada uno (AI-AIV y BI-BIV). Los sub-ensamblajes mayoritarios en los seres humanos son AI y AII y BIII y BIV (Feng y Xiao, 2011).

Las formas parasitarias de *G. duodenalis* son el trofozoíto y el quiste. Las formas patogénicas de la submucosa del duodeno y del yeyuno son los trofozoítos móviles que cuentan con 8 flagelos mientras que los ovalados quistes constituyen las formas de transmisión (forma infectante) y mantienen su infectividad en el medio ambiente, en las condiciones estomacales y en los medios acuáticos incluso tratados con cloro (Carmena, 2012).

La vía de infección es fecal-oral, relacionándose con situaciones de limitado acceso a agua potable y escaso saneamiento (Hotez *et al.*, 2015) junto con la transmisión hídrica con aguas recreativas/de consumo contaminadas y no tratadas.

La infección supone numerosos efectos patogénicos como desarreglo de la integridad intestinal, apoptosis, disbiosis, acortamiento de las microvellosidades y, por lo tanto, cambios en la permeabilidad y absorción intestinal (malabsorción), problemas enzimáticos (maldigestión) etc. (Koh *et al.*, 2013, Vivancos *et al.*, 2018). Sin embargo, la sintomatología varía desde asintomáticos hasta diarrea crónica, deshidratación, retraso en crecimiento, etc. (Carvalho *et al.*, 2007).

El tratamiento de elección para la giardiasis humana es el metronidazol (Vivancos *et al.*, 2018) aunque ya aparecen casos refractarios al tratamiento (Nabarro *et al.*, 2015).

Complejo *Entamoeba*

Se entiende como complejo *Entamoeba* a el conjunto de cuatro especies del género *Entamoeba*, las cuales son morfológicamente indiferenciables. En 1993, con el empleo

de técnicas genómicas, bioquímicas e inmunológicas, se diferenció *Entamoeba histolytica* como especie patógena de *Entamoeba dispar* como especie no patógena, siendo, por lo tanto, especies independientes (Diamond y Clark, 1993). En el año 2012, se identificó en Bangladesh una nueva especie en población infantil, la cual fue nombrada como *Entamoeba bangladeshi*. Esta especie es morfológicamente idéntica a *E. histolytica* y *E. dispar* y de patogenicidad incierta (Royer *et al.*, 2012). La última especie de este complejo *Entamoeba moshkovskii* se aisló en aguas residuales. Aunque se le ha considerado no patógena, su identificación en niños con diarrea provenientes de áreas con saneamiento deficiente ha sido motivo para debatir su patogenicidad (Fotedar *et al.*, 2007a,b).

Los trofozoítos del complejo *Entamoeba* se visualizan al microscopio de forma amebode (irregular) con un solo núcleo en rueda de carro característico. Para el caso de *E. histolytica*, este trofozoíto es el único que puede llegar a contener glóbulos rojos en su citoplasma, lo cual es la única característica que le hace diferenciable del resto de especies mediante microscopía (Rivero de R *et al.*, 2012). Estos trofozoítos se alojan en el colon del ser humano mientras que los quistes que son de forma esférica con 1-4 núcleos son liberados al medio ambiente constituyendo la forma infectante una vez alcanzan la madurez (4 núcleos).

La parasitación por el complejo *Entamoeba* supone amebosis, que resulta endémica en la mayoría de los países tropicales y subtropicales con bajos estándares de higiene y alta densidad de población, donde la enfermedad es una de las principales causas de diarrea (Herbinger *et al.*, 2011). En estos mismos entornos, las altas tasas de infección y reinfección recurrentes son comunes lo que parece conferir cierto grado de inmunidad al hospedador siendo frecuentes las parasitaciones asintomáticas (Blessmann *et al.*, 2003).

E. histolytica puede desencadenar colitis amebiana, provocando apoptosis de las células intestinales (Ralston *et al.*, 2014) y causando una diarrea sanguinolenta, acompañada de dolor abdominal, tenesmo e incluso fiebre (Fotedar *et al.*, 2007a,b). Comentar, además, la posibilidad de abscesos hepáticos y de otras localizaciones extraintestinales (Stanley, 2003; Moran *et al.*, 2013). Por tanto, la identificación y diferenciación de especies dentro del género, es de suma importancia ya que sólo se debe administrar tratamiento en presencia de *E. histolytica* (Dos santos *et al.*, 2025), previniendo el uso indiscriminado e innecesario de medicamentos para el tratamiento de amebosis que pudiera además generar resistencias a los medicamentos (Parija y Khairnar., 2005; Calegar *et al.*, 2016).

El tratamiento de la colitis amebiana y la enfermedad hepática amebiana requiere el uso de dos fármacos combinados: metronidazol o tinidazol junto con paromicina o furoato de diloxanida (Gonzales, Dans y Sio-Aguilar., 2019).

Antes de abordar los helmintos más prevalentes citados previamente en Nicaragua, cabría aclarar que en esta Tesis Doctoral se ha considerado oportuno denominar a los protistas de forma global, incluyendo tanto a protozoos (flagelados del género *Giardia*, amebas del género *Entamoeba* y microsporidios de los géneros *Enterocytozoon* y *Encephalitozoon*) como a apicomplejos (de los géneros *Cryptosporidium*, *Cyclospora* y *Cystoisospora*) y al estramenópilo *Blastocystis*. No obstante, se ha considerado oportuno, hacer referencia a su patogenicidad, de forma que se ha considerado separar a dichos protistas como patógenos/potencialmente patógenos (P/PP) y como comensales (C).

Trichuris trichiura

Trichuris trichiura es uno de los helmintos transmitidos por el suelo (geohelmintos) más frecuente en todo el mundo (CDC, 2024).

Los adultos son blanquecinos con forma de látigo. Las hembras miden 35-50 mm y los machos 30-45 mm. Su extremo anterior, se introduce en la mucosa del intestino grueso. Sus huevos presentan una forma muy característica de limón, de cubierta gruesa y color pardo-amarillento, con dos tapones polares. El diagnóstico se basa en el fácil hallazgo de dichos huevos en las heces.

Aunque las infecciones leves por *T. trichiura* suelen ser asintomáticas, puede producir dolor abdominal y, en las infecciones severas, anemia y desnutrición.

La infección se produce por la vía fecal-oral a partir de ingestión de huevos infectantes del suelo. Los huevos ingeridos eclosionan e ingresan en las criptas del intestino delgado como larvas. Después de madurar durante 1 a 3 meses, los helmintos migran al ciego y el colon ascendente, donde se adhieren al epitelio superficial, se aparean y depositan sus huevos.

El tratamiento consiste en mebendazol, albendazol o ivermectina (Moser, Schindler y Keiser., 2017).

Ascaris lumbricoides

Ascaris lumbricoides es uno de los geohelminthos de mayor tamaño (hembras adultas: de 20 a 35 cm; machos adultos: de 15 a 30 cm) que parasita el intestino del ser humano. Las especies de *Ascaris* derivadas de cerdos (a menudo denominados *A. suum*) también pueden infectar a los seres humanos. Estos dos parásitos están estrechamente relacionados y se han identificado híbridos, por lo tanto, su estatus como especies distintas y reproductivamente aisladas es un tema controvertido (CDC, 2024)

Es la infección helmíntica humana más común a nivel mundial, siendo su incidencia mayor en las regiones tropicales y subtropicales, especialmente en zonas con saneamiento deficiente. Aunque no suele presentar síntomas agudos, las infecciones severas en niños pueden causar retraso del crecimiento debido a la desnutrición, dolor abdominal, obstrucción intestinal y, potencialmente, perforación.

La infección vía fecal-oral es por huevos del suelo en medio ambiente adecuado. La identificación microscópica de huevos en las heces es el método más común para su diagnóstico.

Al igual que para *T. trichiura*, el tratamiento consiste en mebendazol, albendazol o ivermectina. El tratamiento debe administrarse incluso si no hay síntomas, ya que los parásitos pueden causar problemas con el tiempo (Moser, Schindler y Keiser., 2017).

1.3.- Hipótesis de partida

A partir de los resultados obtenidos en una serie de Proyectos de Cooperación al Desarrollo de la Universitat de València (años 2007, 2009, 2011, 2022 y 2024), sobre la diversidad y prevalencia de parásitos intestinales en Nicaragua en población infantil, se ha ido presentado alternativas enfocadas hacia la lucha y control de los parásitos intestinales en distintos departamentos de Nicaragua, relacionándolas con los factores de riesgo responsables de la transmisión, como son las condiciones higiénico-sanitarias, el nivel de infraestructura de las comunidades y, teniendo en cuenta las limitaciones presentes en cada una de las distintas zonas.

La presente Tesis Doctoral arranca para tratar de completar el conocimiento previo que se tenía de población infantil nicaragüense abordando estrictamente el estudio parasitológico de población infantil en comunidades insulares de Nicaragua. Así, con este trabajo, donde se incluye población infantil de todas las islas nicaragüenses se completa el estudio insular que fue iniciado en el año 2011, pero que abarcaba únicamente geohelminthos. La hipótesis de partida, consiste en descifrar el enigma de si

la insularidad influye en el espectro parasitario y los porcentajes de parasitación. Tradicionalmente, se asume que los entornos insulares implican geográficamente un aislamiento que afectaría la dinámica ecológica y, por tanto, afectaría el desarrollo y la transmisión parasitaria (Fernández-Palacios y Morici, 2004).

De esta manera, el espectro parasitario insular cualitativamente se encontraría disminuido mientras que cuantitativamente aparecería aumentado, con respecto al obtenido en poblaciones continentales próximas. También, conviene añadir que los parásitos existentes en un ambiente insular suelen relacionarse con aquellos que presentan ciclos biológicos de tipo monoxeno, puesto que supondría mayor capacidad de éxito en la transmisión (Fernández-Palacios y Morici, 2004). Y precisamente con este tipo de ciclos monoxenos, nos estamos refiriendo a los parásitos intestinales tanto patógenos como comensales, donde sus papeles epidemiológicos en los mecanismos de transmisión coinciden aportando información al respecto a los hábitos higiénicos de la población y del medio ambiente estudiado.

Con esta idea, y como novedad en la presente Tesis Doctoral, se ha Introducido métodos moleculares para el genotipado de *Giardia duodenalis* y el subtipado de *Blastocystis* sp., que supondrán datos fundamentales para determinar el potencial zoonótico, es decir, las vías y las fuentes de transmisión de las infecciones. De igual manera, también se pretende completar el espectro parasitario, en busca de especies menos frecuentes de las que no se contaba con antecedentes previos en el país que, cada vez, cobran mayor relevancia a nivel mundial, demostrando así la realidad parasitológica actual de estas comunidades insulares del país. A su vez, se persigue contribuir a mejorar la comprensión de la epidemiología de las parasitosis, proponiendo soluciones y acciones que permanezcan en el tiempo, encaminadas en pro de un posible control de las parasitosis intestinales en Nicaragua.



Capítulo 2.-Material y métodos

Capítulo 2.- Material y métodos

2.- Procedencia del material estudiado: Nicaragua

Todas las muestras del presente estudio proceden de varias regiones de Nicaragua, un país de América central ubicado en el hemisferio norte entre la línea ecuatorial y el trópico de cáncer. Limita al norte con Honduras, al sur con Costa Rica, al oeste con el océano Pacífico y al este con el mar Caribe. Tiene una superficie de 130.374 km², incluyendo lagos, lagunas, islas y cayos, estableciéndose como el país más extenso de América central.

Según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos de Nicaragua (INEC, 2023), territorialmente, Nicaragua está dividido en 15 departamentos: Boaco, Carazo, Chinandega, Chontales, Estelí, Granada, Jinotega, León, Madriz, Managua, Masaya, Matagalpa, Nueva Segovia, Río San Juan y Rivas. Además, cuenta con 2 Regiones Autónomas: la Costa Caribe Norte (RACCN) y la Costa Caribe Sur (RACCS) (véase Figura 1).



Figura 1: Mapa político de Nicaragua. Fuente: https://www.freepik.es/vector-premium/mapa-nicaragua_222449766.htm.

Desde un punto de vista geográfico, Nicaragua se divide en 3 grandes regiones: la región del Pacífico, con una población del 54%; la región central, con una población del 32%; y la región del Caribe, con el 14% de la población total (véase **Figura 2**).



Figura 2: Distribución de los departamentos y las regiones de Nicaragua. Fuente: <https://www.casabenjaminlinder.org/navigatingnicaragua/whats-the-beef-with-nicaragua>.

La “región Pacífico” es reconocida por ser una región volcánica, destacando el volcán Maderas y el volcán Concepción que conforman la isla de Ometepe, la cual está ubicada en el lago Cocibolca, también conocido como el Gran Lago de Nicaragua. Este lago es reconocido como uno de los lagos más grandes del mundo. Goza además de tener especies catalogadas como exóticas, tal es el caso del tiburón de agua dulce (*Carcharhinus leucas*).

La “región central” destaca por sus recursos hídricos. Es fuente de dos grandes ríos como el Coco o Segovia y el Río Grande de Matagalpa, que desemboca en el mar Caribe, el cual ha causado múltiples daños físicos e incluso muertes por sus recientes crecidas. Además, la población asentada en sus orillas carece de un adecuado sistema de recolección de excretas, al ser desechadas en el río.

La “región Caribe” es plana y presenta extensos bosques. Aquí se encuentra ubicada la selva de Bosawás, reconocida como la segunda selva más grande del continente y por tanto con una rica biodiversidad. En esta zona también hay grandes ríos que

desembocan en el mar Caribe: Río Coco o Segovia, Kukalaya, Bambana, San Juan e incluso el Río Grande de Matagalpa, entre otros.

En cuanto a su demografía, el país tiene una población de 6.851.000 habitantes, siendo el 50% mujeres. Sus habitantes son multiétnicos, mayoritariamente mestizos. La distribución poblacional por zonas indica que el 41% viven en zonas rurales, mientras que el 59% viven en zona urbana (INEC, 2023).

Nicaragua presenta un clima tropical, cuyas temperaturas varían dependiendo de la altura, pudiendo tener una media de 25°C en las zonas más elevadas, mientras que en el interior varía entre 15°C y 26°C. A pesar de presentar un clima tropical, tiene una estación muy seca, con temperaturas que rondan los 33°C.

El idioma oficial es el español, aunque es muy común, debido a la colonización británica, que se hable inglés criollo, junto con otras lenguas autóctonas como rama, misquito y sumo, principalmente en las Regiones Autónomas. De hecho, la educación escolar se imparte en varias lenguas. Pese a ello, la tasa de analfabetización en el país es del 78% situándose entre las más elevadas del continente, pese a que existen actualmente muchos centros educativos y que la educación primaria es obligatoria y gratuita.

La economía del país está poco desarrollada. Su pilar fundamental es la agricultura debido a la fertilidad de sus suelos aportada por los diversos volcanes, seguida de la producción de artículos de alta demanda. El crecimiento anual promedio que se ha sostenido por algunos años es del 4%. Para el año 2020 como consecuencia de la pandemia y algunos huracanes, la pobreza aumentó hasta un 16%. Sin embargo, las proyecciones indican un crecimiento en la economía en este 2025 de al menos un 3% mediante estrategias de consolidación fiscal que reduzcan los niveles de pobreza y desigualdad a mediano plazo.

En distintos departamentos de Nicaragua aparecen islas de interior, es decir, islas localizadas en lagunas, bahías cerradas, lagos, etc., lo que significa que carecen de contacto directo con agua salada procedente bien de mares o de océanos. Todas estas islas representan unos enclaves de características particulares para la distribución y transmisión de especies parásitas. De todo el país, se ha podido disponer de material perteneciente a un total de 5 islas, distribuidas tanto en la costa Pacífico como en la costa atlántica (caribeña) (**Figura 3**).

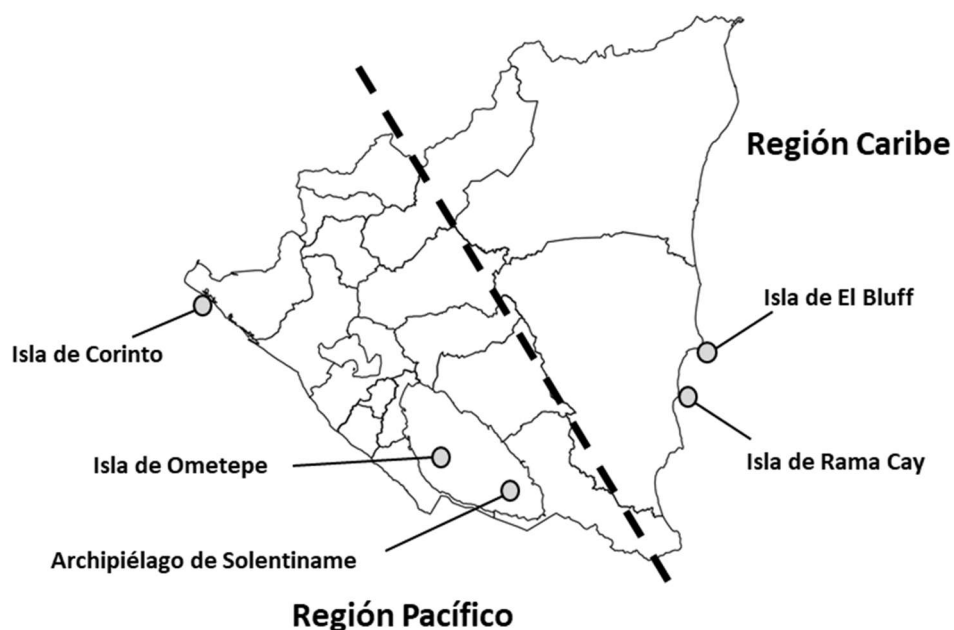


Figura 3: Detalle de las islas muestreadas en ambas regiones (Pacífico y Caribe). Fuente: Jacklyn Comas.

2.1.- Departamento de Chinandega

Tiene como cabecera departamental Chinandega, ubicada en la región Pacífico conocida como la ciudad de las naranjas. Se ubica en el noroeste del país en el volcán más alto de Nicaragua llamado San Cristóbal, el cual se eleva a 1.745 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con Honduras, al sur con el departamento de León, al este con los departamentos de Madriz, Estelí y León, y al oeste con el Océano Pacífico.

Chinandega tiene una extensión de 4.822 km². Cuenta con un clima tropical seco con temperaturas medias entre 21°C y 30°C, con máximas que pueden llegar hasta 42°C. En cuanto a demografía, presenta 439.906 habitantes, de los cuales más del 65% viven en zona urbana.

La economía del departamento se basa principalmente en la agricultura, ya que cuenta con 34 cooperativas agrícolas, debido a la fertilización con los restos de material volcánico que son expulsados a sus tierras por los volcanes de la zona que permanecen en constante actividad. Destacan los cultivos de maíz, plátano, arroz, caña de azúcar, sésamo y maní. Algunos de estos productos son de tipo exportación como el plátano y maní, y los demás para consumo interno o materias primas, como es el caso de la caña de azúcar que se utiliza además para producción de licores. La ganadería también tiene una significativa importancia, ya que el departamento ocupa el primer lugar en

producción pecuaria. La carne se comercializa principalmente en Managua, mientras que los productos lácteos y derivados son utilizados para el consumo local.

2.1.1.- Isla de Corinto

Es un municipio perteneciente al departamento de Chinandega. Tiene una población de 18.500 habitantes, con una extensión de 70,67 km² y una altura de 8 metros sobre el nivel del mar, en el Pacífico Nicaragüense. Por su ubicación, fue escogida para convertirla en una ciudad portuaria debido a que está protegida por la isla El Cardón y la península de las islas Castañones. Se trata de una isla sin conexión con tierra firme, logrando ésta mediante la construcción de una carretera para vehículos pesados y un puente (**Figura 4**).



Figura 4: Puente Paso Caballos de la isla de Corinto. Fuente: <https://www.facebook.com/113295577686915/photos/a.113304947685978/138229668526839/>.

En la isla de Corinto, se diferencian 3 barrios según sus infraestructuras dominantes (**Figura 5**). Así, por un lado, se encuentra el Barrio Nuevo, más próximo al Pacífico, cuyas infraestructuras son deficientes y, por otro lado, se encuentra el barrio de San Martín y el barrio de El Chorizo con mejores construcciones.

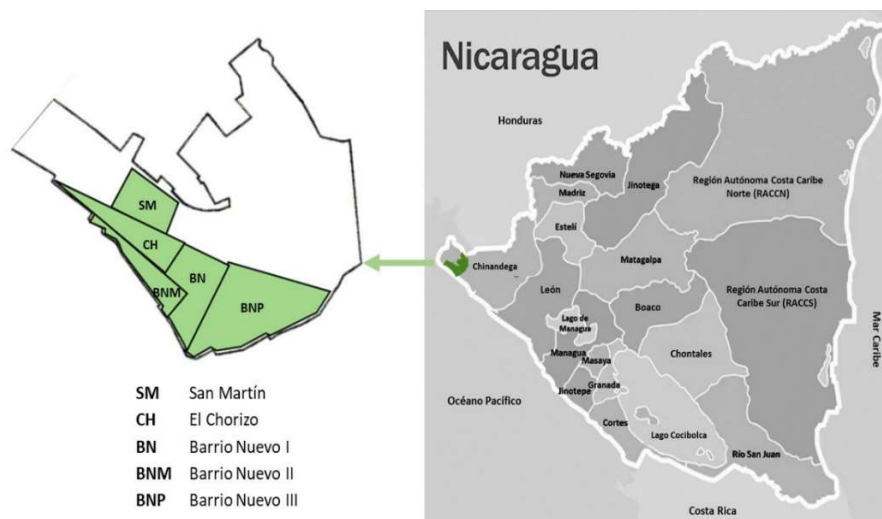


Figura 5: Mapa de la isla de Corinto con los barrios estudiados. Fuente: Jacklyn Comas Murillo.

En la isla de Corinto se exportan e importan muchos productos. De hecho, la mayoría del petróleo que ingresa en el país, lo hace a través de este puerto, convirtiéndolo en el puerto internacional más importante de Nicaragua. En cuanto al turismo, también supone una porción de la economía local ya que tiene una playa muy atractiva a los visitantes nacionales la cual es conocida como Costa Azul, donde los pescadores de la zona ofrecen alternativas para recorrer la isla.

En esta isla se recolectaron un total de 88 muestras, procedentes de niños de entre 1 y 12 años (**Figura 6**) y, más en concreto, 42 (48%) del sexo masculino y 46 (52%) del sexo femenino tal y como se observa en la **Tabla 3**. Asimismo, en dicha **Tabla 3**, se detalla también el número exacto de muestras recolectadas en cada uno de los barrios anteriormente mencionados.



Figura 6: Niños de Corinto y sus madres con botes de recolección de muestra fecal. Fuente Carla Muñoz.

2.2.- Departamento de Rivas

Tiene como cabecera departamental a Rivas. Geográficamente, en la región Pacífico, ocupa el istmo de Rivas, el cual separa el gran lago de Nicaragua del Océano Pacífico. Limita al norte con los departamentos Carazo y Granada, al sur con Costa Rica, al este con el lago Cocibolca y el departamento de Río San Juan, y al oeste con el Océano Pacífico. Aquí se encuentran dos de los más atractivos turísticos del país: la ciudad de San Juan del Sur y la isla de Ometepe, que se encuentra en el lago Cocibolca.

El clima del departamento es tropical de sabana. De enero hasta abril, es un clima seco con una temperatura promedio de 27°C. Desde mayo hasta octubre el clima es húmedo con una temperatura promedio de 25°C.

Rivas posee una población de unos 182.645 habitantes, de los cuales el 49% viven en la zona urbana. La economía del departamento gira en torno a la pesca, agricultura y ganadería. En cuanto al turismo, las excursiones a la isla de Ometepe y al departamento de Río San Juan representan el mayor reclamo turístico, repercutiendo beneficios económicos.

2.2.1.- Isla de Ometepe

Está situada en el departamento de Rivas, al sudeste del país, en la frontera con Costa Rica. Se trata de una isla volcánica, con una extensión de 276 km² lo que la convierte en una de las islas lacustres más grandes situada dentro de un lago.

Ometepe, sinónimo de dos montañas en lengua nativa, está conformada por dos grandes volcanes: el volcán Concepción y el Maderas. **(Figura 7)** El primero de estos, cubierto por 2.200 hectáreas de bosque protegido, tiene una altitud de 1.610 metros, con un diámetro de 18 km, encontrándose activo aún. Su última erupción de lava fue en el año 1.957. En dicha ocasión la isla tuvo que ser evacuada. Recientemente, en el 2.005, debido a la presión interna retenida en el volcán, se produjeron algunos temblores de considerables magnitudes, pero sin daños graves.

El volcán Maderas, tiene una altitud de 1.394 metros, un diámetro de 14 km que se encuentra rodeado por 4.100 hectáreas de reserva natural, lo que la convierte en atractivo turístico. Actualmente se considera extinto ya que, su última erupción, es de hace más de 8 siglos. Tiene un clima húmedo que facilita la producción de agua potable que beneficia a toda su población. De hecho, en su interior hay una laguna que toma el mismo nombre (Laguna de Maderas).

En el centro de la isla, en medio de ambos volcanes se encuentra el istmo Istián. Por la zona, fluye el río Istián formando un terreno pantanoso que se extiende por unas 1.767 hectáreas, de las cuales gran parte pertenece a la “Comunidad Indígena de Tilgue”. Este territorio es reconocido por ser un santuario de aves locales y migratorias.

La calidad de vida de la población se basa, por una parte, en el turismo que constituye una gran fuente de ingresos para los pobladores ofreciendo paseos guiados a los turistas a través de volcanes y bosques. Por otra parte, la pesca y la agricultura representan el sustento principal de las comunidades, bien sea para su consumo o para exportación. Su mayor producción es el plátano, que se comercializa en países vecinos como Honduras, Guatemala y el Salvador.



Figura 7: Vista panorámica de la isla de Ometepe, mostrando los dos volcanes: el volcán Concepción (izquierda) y el volcán Maderas (derecha). Fuente: <https://passporterapp.com/es/blog/nicaragua/volcanes-nicaragua/>.

La población de la isla es de 30.000 personas, las cuales mayoritariamente viven en sus dos principales centros de las municipalidades, que son, a su vez, los dos puertos más importantes de la isla: Moyogalpa y Altagracia (véase **Figura 8**).

El primer núcleo de mayor población es Moyogalpa, de la cual se pudo prospectar dos importantes comunidades, llamadas La Paloma y La Concepción (La Concha). Altagracia es la otra gran población, con dos importantes comunidades, conocidas como: Balgüe y Mérida (véase **Figura 8**).

En la isla de Ometepe se recolectaron un total de 442 muestras, procedentes de niños desde 1 hasta 15 años y, más en concreto, 195 (44%) del sexo masculino y 247 (56%)

del sexo femenino (**Figura 9**). En la **Tabla 3** se observa las muestras estudiadas de cada una de las comunidades, por edad y sexo de los niños.



Figura 8: Mapa de la isla de Ometepe: municipalidades (Moyogalpa y Altagracia) y comunidades prospectadas (La Concepción y La Paloma en Moyogalpa; Balgüe y Mérida en Altagracia. Fuente: Jacklyn Comas.



Figura 9: Niños de la comunidad de Mérida, en la municipalidad de Altagracia, en la isla de Ometepe. Fuente: Aleyda Pavón.

2.3.- Departamento de Rio San Juan

Este departamento incluye el Archipiélago de Solentiname y el río San Juan, del que toma su nombre. Tiene una extensión de 1.445 km², siendo su cabecera departamental San Carlos ubicado en el sureste de Nicaragua. Limita al norte con el departamento de Chontales, al sur con Costa Rica, al este con la costa Caribe Sur y mar Caribe, y al oeste con el lago Cocibolca. Demográficamente, este departamento es el menos poblado de todo el país, con 135.000 habitantes, siendo el arte, la pesca y la agricultura los pilares fundamentales de la economía.

2.3.1.- Archipiélago de Solentiname

Este archipiélago, dentro del departamento de Rio San Juan, en la región Pacífico, está localizado en el extremo sureste del lago Cocibolca. Consiste en un conjunto de 36 islas e islotes con diferentes tamaños, con una superficie 190 km² y con 4.020 hectáreas de tierra firme. Tiene una elevación sobre el nivel del mar que está entre 30 y 250 metros. Presenta una población dispersa e incomunicada de unos 1.000 habitantes que no cuentan con servicio de energía eléctrica, por lo que algunos de sus pobladores tienen paneles solares o motores eléctricos que abastecen sus hogares de este servicio. En Solentiname se destacan 4 islas por ser las más grandes y pobladas, estas son: Mancarrón, Mancarroncita, San Fernando y la Venada (**Figura 10**).

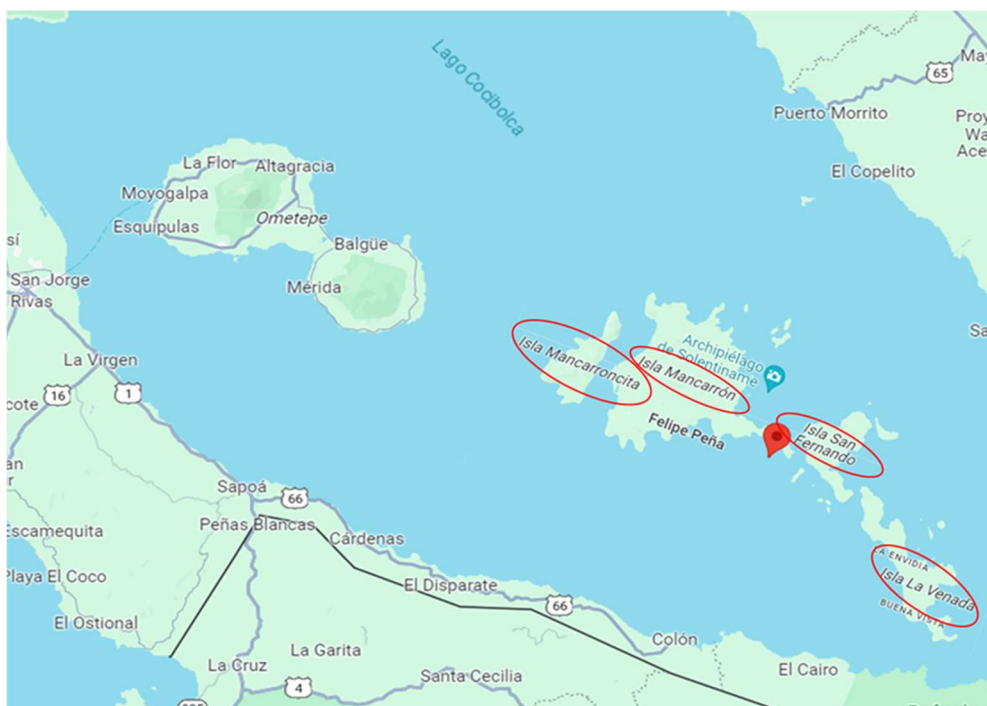


Figura 10: Mapa de las principales islas del Archipiélago de Solentiname. Fuente: Jacklyn Comas.

La economía se basa principalmente en la agricultura, pesca artesanal, pinturas, artesanías y en parte también por el turismo, ya que su abundante riqueza natural y la ausencia de servicios eléctricos lo hacen un atractivo para viajeros que pretenden desconectar del bullicio y contaminación de las grandes ciudades.

En dicho Archipiélago de Solentiname se recolectaron un total de 88 muestras fecales, procedentes de niños de entre 1 y 15 años y, más en concreto, 42 (48%) del sexo masculino y 46 (52%) del sexo femenino, tal como se puede observar en la **Tabla 3**. Además, el detalle del número de muestras recolectadas en cada una de las islas más pobladas de este Archipiélago se observa en la citada Tabla.

2.4.- Región Autónoma de la Costa Caribe Sur (RACCS)

La RACCS se ubica en el suroeste de Nicaragua. Tiene una extensión de 27.260 km², ocupando el 21% del territorio nacional. Limita al norte con la Región Autónoma de la Costa Caribe Norte (RACCN), al sur con Río San Juan, al este con el Océano Atlántico, y al oeste con los departamentos Matagalpa, Boaco y Chontales (**Figura 11**). Administrativamente está dividida en 12 municipios que son: Bluefields, Corn Island, Desembocadura de Río Grande, El Ayote, El Rama, El Tortuguero, Kukra Hill, La Cruz de Río Grande, Laguna de Perlas, Muelle de los Bueyes, Nueva Guinea y Paiwas. Presenta un clima tropical húmedo.



Figura 11: Mapa de la Región Autónoma de la Costa Caribe Sur (RACCS). Fuente: <https://www.connectas.org/especiales/costa-caribe-la-nicaragua-invadida-violentada-saqueada/la-invasion-de-colonos-que-obliga-a-indigenas-a-huir-de-sus-hogares.html>.

La RACCS es reconocida por ser una de las más grandes, con una población de 414.543 habitantes de los cuales el 44% viven en zona urbana, y por presentar en su territorio una amplia variedad de etnias multilingües.

La economía de la región se basa en el comercio y la agricultura. Cuenta con el puerto más grande de Nicaragua, en el cual se hacen grandes importaciones y exportaciones.

2.4.1.- Rama Cay

Esta isla está ubicada en la bahía de Bluefields y se compone de dos pequeños cayos unidos a través de un puente. Tiene una superficie de 0,22 km² y su población es de 900 habitantes, de los cuales la mayoría son niños pertenecientes a la etnia Rama (**Figura 12**). A nivel cultural, esta isla tiene mucha importancia por albergar a los últimos aborígenes de esta etnia.

Su condición económica es de extrema pobreza, debido a que se rigen a su cultura y a sus costumbres ancestrales. Viven de la pesca artesanal, el cultivo de maíz, cacao y banano, como también de la cría de animales como cerdos, pavos y gallinas. En esta comunidad se vive en casas colectivas (**Figura 13**) y son liderados por un consejo comunitario de ancianos, a los cuales se les deben pedir permisos para poder ingresar a la zona. El turismo en la zona no es de los más atractivos, por tanto, no es una fuente de ingresos rentable y sostenible para sus habitantes.



Figura 12: Niños de la etnia Rama (isla Rama Cay). Fuente: Marcelo Montecino.

El número de muestras recolectadas en el Rama Cay fue de 119, correspondientes a 63 (53%) niños y 56 (47%) niñas todos ellos con edades comprendidas entre 1 y 9 años de edad, tal y como se aprecia en la **Tabla 3**.



Figura 13: Viviendas colectivas en isla Rama Cay. Fuente: https://es.wikipedia.org/wiki/Cayo_Rama.

2.4.2.- El Bluff

Es una isla portuaria entre el mar Caribe y la bahía de Bluefields, situada en la desembocadura del río Escondido. Tiene una extensión de 1,29 km² y una población de 5.345 habitantes de varias etnias del país. Tiene un clima tropical húmedo con temporales de alta pluviosidad y otros de mucha sequía, por tanto, su terreno va de fangoso a muy seco, lo que hace difícil el desarrollo de la vegetación. El puerto está comunicado con el resto del país a través de vías fluviales (**Figura 14**), lo que le confiere un gran potencial económico e industrial.

La economía de la zona se basa principalmente en el comercio de pequeños negocios de los pobladores, importaciones y exportaciones nacionales e internacionales de combustible y productos locales tales como el caso de los camarones.

El número de muestras recolectadas en El Bluff fue de 109, correspondientes a 59 (54%) niños y 50 (46%) niñas, todos ellos con edades comprendidas entre 1 y 15 años, tal y como se observa en la **Tabla 3**.



Figura 14: Vista aérea de El Bluff donde se aprecia el Mar Caribe y Río Escondido. Fuente: <https://www.facebook.com/NicaraguanHostel/posts/el-bluff-regi%C3%B3n-aut%C3%B3noma-norte-frente-a-la-bah%C3%ADa-de-bluefields-nicaragua/1247980668923413/>.

2.5.- Total material estudiado

En el presente trabajo se ha estudiado un total de 918 muestras fecales recolectadas en población infantil. Cabe mencionar que los grupos de edades, según criterios de la OMS, se han establecido en 4 rangos: 1 a 5 años, preescolares; 6 a 11 años, escolares; 12 a 14 años, preadolescentes; y, 15 años, adolescentes. Esta población infantil procedía de distintas islas de interior localizadas, todas ellas, en Nicaragua. La totalidad de estas muestras, disponibles en el área de Parasitología del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación de la Universidad de Valencia, se consiguieron gracias a sucesivos Proyectos de Cooperación al Desarrollo concedidos al amparo del Convenio de colaboración entre la Universidad de Valencia (UV) y la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN) en Managua.

Para poder disponer de una visión global del material estudiado, dado que se analiza muestras procedentes de 5 islas continentales distintas, procedentes de 4 departamentos diferentes, se ha considerado oportuno plasmar una tabla con todos los

materiales recolectados, además de la procedencia, el número de niños estudiados y, su relación con el sexo y la edad (véase **Tabla 3**).

Tabla 3. Recopilación del material objeto del presente estudio, con detalle la procedencia, sexo y edad de la población infantil participante.

Isla (Departamento)	Municipio	Comunidad	Sexo		Edad (años)	Total
			♂	♀		
Ometepe (Rivas)	Altagracia	Balgüe	30	44	01 - 15	302
		Mérida	101	127		
	Moyogalpa	La Paloma	79	83	01 - 15	212
		La Concha	23	27		
Solentiname (Río San Juan)	San Carlos	Mancarrón	21	17	01 - 15	88
		San Fernando	9	11		
		La Venada	8	12		
		Mancarroncita	4	6		
Corinto (Chinandega)	Corinto	Barrio Nuevo	21	24	01 - 12	88
		San Martín	10	8		
		El Chorizo	11	14		
Rama Cay (Costa Caribe Sur)	Bluefields	Rama Cay	63	56	01 - 09	119
El Bluff (Costa Caribe Sur)	Bluefields	El Bluff	59	50	01 - 15	109
TOTAL			439	479	01 - 15	918

2.6.- Consideraciones éticas

Para obtener las muestras fecales de los menores de las islas, lo primero que se hizo fue contactar con la persona encargada en Nicaragua de colaborar con el proyecto de Cooperación internacional, la Dra. Aleyda Pavón (Profesora Titular de Parasitología en el Instituto Politécnico de la Salud de la UNAN - Managua), quien a su vez hizo de mediadora para obtener los respectivos permisos y autorizaciones pertinentes con el Ministerio de Salud (MINSa) para el desplazamiento a las islas.

Una vez obtenido dicho permiso del MINSa se procedió a solicitar la autorización local de los líderes de las comunidades para el ingreso en las zonas isleñas. Una vez

obtenidos, la Dra. Pavón, junto con algunos estudiantes de grado de Bioanálisis clínico de la UNAN - Managua, procedieron a explicar en los domicilios particulares los objetivos del estudio y asegurar la autorización de los responsables legales (padres/tutores) de la población infantil objeto del estudio. En todo caso, la participación de la población infantil fue voluntaria.

Todo el abordaje experimental fue llevado a cabo en las instalaciones de la Universidad de Valencia, gracias a que se disponía del informe favorable del Comité Ético de Investigación en Humanos de la Universidad de Valencia (UV-INV-ETICA-1723929).

2.7.- Diseño del estudio

La presente Tesis Doctoral consiste en un estudio de tipo descriptivo y de corte transversal, con muestras de material fecal (recogidas desde el año 2.020) de las distintas islas existentes en Nicaragua.

2.7.1.- Recolección de muestras y cuestionario epidemiológico

Una vez seleccionada la población de estudio en cada una de las 5 islas incluidas en el presente trabajo, se entregaron consentimientos informados, los cuales fueron firmados por los padres/tutores de los menores. Posteriormente, se les entregó un bote de recolección de muestra fecal por cada menor de edad a su cargo. Asimismo, se les indicaba la forma correcta de recolección de la muestra. Al día siguiente la Dra. Pavón y sus estudiantes recogían las muestras en cada domicilio, rotulaban los botes y realizaban un cuestionario epidemiológico añadiendo además reportes sobre datos propios de la muestra fecal, como consistencia y color.

El cuestionario epidemiológico, diseñado en forma de preguntas básicas cerradas y respuestas de sí y no (**Figura 15**), comprendía datos de información general, datos socioeconómicos, hábitos alimenticios y de higiene personal.

Cuando se daba el caso de que la muestra no había sido recogida, siempre que se tuviera disponibilidad de suficiente tiempo, y siempre que la Dra. Pavón y sus estudiantes siguieran hospedados en la zona, se les daban indicaciones a los padres/tutores para entregar las muestras fecales con posterioridad.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
IPS UNAN MANAGUA, DEPARTAMENTO DE BIOANALISIS CLINICO

La presente encuesta pretende la recopilación de la información, que complemente los resultados del análisis coprológico para la posterior elaboración del trabajo de curso correspondiente a la asignatura "Parasitología médica II".

I. Datos generales

Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: _____
Procedencia: Managua _____
Dirección: _____

II. Información general

1. En la actualidad presenta alguno de los siguientes síntomas:
Diarrea _____ Vómito _____ Fiebre _____ Comezón en el ano _____ Nauseas _____ Dolor abdominal _____
Estreñimiento _____
2. Ha eliminado parásitos adultos? _____, describalo _____
3. Cuando fue la última vez que se desparasitó? _____, y que tomo _____

III. Condiciones socio económicas e higiénico sanitarias

1. Tipo de vivienda: Techo _____ Pared _____ Piso: _____
2. La eliminación de las heces la realiza por medio de: _____
3. Las aguas residuales las elimina por medio de: _____
4. La basura la elimina por medio de: _____
5. El agua que usa para tomar y cocinar la obtiene por medio de: _____
6. El agua la almacena en: _____ tapados _____ destapados _____
7. En su casa ha notado la presencia de: moscas _____ cucarachas _____ ratones _____
8. Los animales domésticos con los que convive en su casa son: _____

9. Entre las actividades laborales de sus padres están: _____
10. Si la familia trabaja en el campo en labores agrícola, usted colabora? _____

IV. Hábitos alimenticios e higiene personal

1. Acostumbra comer carne de res _____, cerdo _____ pollo _____ pescado _____ u otros animales: _____
cruda _____, cocida _____, asada poco hecha _____, asada muy hecha _____
2. Acostumbra comer frutas _____, verduras _____, las lava antes de comerlas _____
3. Se lava las manos antes de comer _____ y después de haber comido _____
4. Se lava las manos después del uso de la letrina o inodoro _____
5. Le gusta andar descalzo (a) _____ en la tierra.
6. Se baña diario _____

Nota: la consistencia de la muestra de heces fue: líquida _____ blanda _____ sólida _____
Se observó en la muestra de heces: mucus _____, sangre _____, mucus y sangre _____ otros: _____

Figura 15: Modelo del cuestionario epidemiológico empleado en las diferentes comunidades. Fuente: Universidad Autónoma de Nicaragua (Managua).

Normalmente, en estudios epidemiológicos de índole coprológica se recomienda la recolección de al menos 3 muestras fecales de cada individuo, obtenidas en días alternos. Esta recomendación se debe a que la emisión de parásitos y/o estructuras

parasitarias puede producirse de manera intermitente. Además, los individuos pueden encontrarse en el período prepatente, que es el tiempo comprendido entre la infección y la eliminación de formas de resistencia (huevos, larvas, quistes, etc.).

Sin embargo, en el presente estudio se tomó una única muestra fecal a cada participante, debido a las dificultades propias del terreno insular, relacionadas bien con el difícil acceso a las comunidades isleñas, bien a la negativa de los padres/tutores a participar en programas con financiación extranjera que comúnmente fallan en la divulgación de resultados y de los que no obtienen ningún beneficio aparente.

2.7.2.- Procesamiento muestras en terreno

En cada una de las 5 islas incluidas en este trabajo, la Dra Pavón junto con sus estudiantes, adecuaban un laboratorio improvisado en los lugares de hospedaje, para poder fijar adecuadamente todas las muestras fecales recogidas y trasladarlas a la UNAN Managua, gracias a los Proyectos de Cooperación, así como los convenios existentes entre ambas Universidades (UV- UNAN Managua).

Cabe señalar que solo en la isla de Corinto, concretamente en el laboratorio móvil improvisado donde también participaron miembros de la UV, se pudo realizar la técnica de Kato-Katz (**Figura 16**) a las muestras fecales frescas, previamente a la fijación de estas. Asimismo, también se logró fijar dichas muestras fecales con alcohol para poder aplicar técnicas moleculares posteriormente en Valencia. A continuación, se detalla el procesamiento de las muestras en terreno.



Figura 16: Realización de Kato-Katz en el laboratorio improvisado. Fuente Carla Muñoz.

2.7.2.1.- Técnica de Kato-Katz

Esta técnica cualitativa y cuantitativa es la técnica de referencia para el recuento de huevos de geohelminths y la clasificación de la intensidad de infección, basándose en el número de huevos por gramos de heces (hgh) para cada especie, según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

En esta técnica (Katz *et al.*, 1972) es necesario que el material fecal sea fresco por lo que todos los Kato-Katz analizados fueron realizados in situ en Nicaragua.

La técnica se realiza de la siguiente manera: sobre un papel satinado, se pone una pequeña cantidad de materia fecal fresca (sin fijar); sobre ella se pone un pequeño tamiz de nylon; con ayuda de una espátula plástica pequeña se hace movimiento de raspado sobre el tamiz con la finalidad de filtrar partículas muy pequeñas de materia fecal; en un molde plástico (incluido en el kit Helm Teste Bio-Manguinhos® Instituto Fio-Cruz, Brasil) depositado sobre un porta objetos, se va rellenando con material fecal tamizado; posteriormente, se retira el molde de manera cuidadosa quedando una proporción de muestra del tamaño de una lenteja, que serán exactamente 41,7 mg de heces.

A continuación, se toma papel celofán previamente cortado e impregnado en una solución de glicerina con verde malaquita y solución salina. Se pone sobre la muestra para hacer un extendido de la misma, de forma que quede lo más homogénea posible sobre el portaobjetos. Finalmente, se procede a revisar la muestra en busca de huevos (Figura 17).

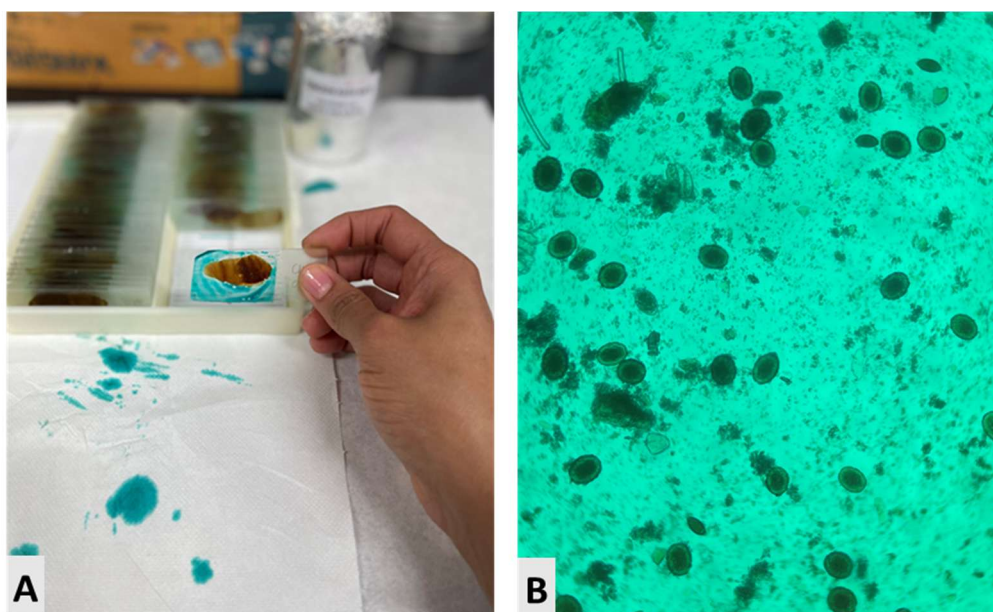


Figura 17: (A) Muestra con la técnica de Kato-katz aplicada para visualizar; (B) Microfotografía de huevos de geohelminths en Kato-Katz. Fuente: Jacklyn Comas.

Lo recomendado es no esperar más de 1 h para revisarlas, ya que se pierde el color y algunos huevos pueden dejar de verse con claridad, como en el caso de los ancilostómidos. Al lograr identificar huevos, estos se deben contar en su totalidad por cada especie. Se debe hacer un recorrido de todos los campos y el conteo final se multiplicará por un factor de 24. De esta forma, se obtendrá la cantidad de huevos por gramo de heces y se realizará la respectiva clasificación de la intensidad de parasitación según sea el caso en leve, moderada y severa (**Tabla 4**).

Tabla 4. Criterios de la O.M.S. para la clasificación de los niveles de intensidad de parasitación a partir de los huevos por gramo de heces en geohelminthos (hgh: huevos por gramo de heces) (Montresor *et al.*, 1998).

Helminto	Intensidad leve (hgh)	Intensidad moderada (hgh)	Intensidad severa (hgh)
<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

2.7.2.2.- Fijación

La fijación del material fecal se realiza con Formalina 10%, la cual se prepara con Formaldehído 37% diluido en agua destilada en proporciones de 1:9. Se utiliza este fijador por ser más económico, por su facilidad para ser preparado en campo y la compatibilidad con las técnicas parasitológicas a utilizar en este estudio (técnica de concentración de Ritchie y Ziehl-Neelsen modificada).

A las 24 horas, tras la recogida de las muestras fecales en cada una de las islas, éstas eran fijadas en formalina al 10% en una proporción de 1:3 (una parte de heces y tres partes de la solución fijadora) para su transporte al laboratorio de la UNAN para ser, posteriormente, filtradas antes de su adecuación para el transporte a la UV.

Cabe señalar, que con el objetivo de poder incluir una aproximación de índole molecular en el diagnóstico parasitológico y al poder disponer de material fijador de alcohol, en la isla de Corinto, se añadió una fijación de las 88 muestras recogidas en alcohol 70° en una proporción de 1:3 (una parte de heces y tres partes de alcohol). Estas muestras fueron almacenadas en tubos Falcon de 15 ml con tapa de rosca, previamente etiquetados con número y nomenclatura correspondiente a la isla de recolección, para un transporte seguro.

2.7.2.3.- Filtración

Las muestras previamente fijadas con Formalina al 10%, fueron filtradas en la UNAN a través de gasa de tela monofilamento. El sedimento obtenido se depositó en tubos Falcon de 15 ml con tapa de rosca, previamente etiquetados con número y nomenclatura correspondiente a la isla de recolección, antes de proceder a su transporte.

2.7.2.4.- Transporte

En la UNAN Managua, se dispuso todo el material fecal para su correcto traslado aéreo hasta la UV. Así, todas las muestras filtradas se prepararon para ser trasladadas a Valencia, concretamente al área de Parasitología, para ser debidamente analizadas. En concreto, todos los tubos Falcon fueron sellados con Parafilm (**Figura 18**) para evitar que la presión durante el vuelo pueda vaciar el contenido. Las muestras fijadas fueron analizadas microscópicamente de forma paulatina desde el año 2020 hasta el 2022.



Figura 18: Muestras filtradas, fijadas, rotuladas y selladas con papel parafilm para el transporte aéreo.
Fuente: Jacklyn Comas.

2.7.3.- Procesamiento muestras en laboratorio UV

Para la identificación de parásitos se realizaron varias técnicas analíticas complementarias, debido a que aún no existe una técnica considerada como de referencia para la correcta identificación simultánea de todos los parásitos intestinales.

2.7.3.1.- Trabajo microscópico

Para la identificación microscópica de los parásitos, se utilizó un microscopio de marca ZEISS modelo Primostar 1 con un revolver de 4 objetivos con 4x, 10x, 40x y 100x aumentos y con dos oculares WF 10x/20. Las mediciones se realizaron con micrométrico calibrado para todos los objetivos del microscopio.

Además, se aprovechó la detección microscópica de parásitos para realizar microfotografías con los diferentes objetivos. Para ello se utilizó la cámara de un Iphone 12 pro max y un soporte universal para el móvil de la marca SEEKONE.

A continuación, se detalla las distintas técnicas aplicadas para el diagnóstico coprológico con el microscopio en la UV.

A) Visión directa

Con la finalidad de poder observar las estructuras parasitarias sin ningún daño o alteración en su morfología, se realizó una visión directa al microscopio, analizando dos microgotas de la muestra fecal previamente fijada, sin realizarle ningún otro proceso químico, físico o mecánico.

Para ello se utilizaron pipetas de vidrio con tetinas de goma, porta objetos, cubre objetos de 22x22 (mm), solución salina 0,85% y Lugol doble (2%).

El protocolo para realizar esta técnica consiste en agitar la muestra contenida en los tubos Falcon para resuspender el pellet y lograr una distribución uniforme. Se extrae una gota que se pondrá directamente en el porta objeto. A esta gota se le puede añadir una gota de solución salina o Lugol. Se pone encima el cubre objetos, se sitúa la muestra en el microscopio iniciando la revisión de la misma desde un extremo, con el objetivo de 10x, hasta revisar toda el área bajo el cubreobjetos. Una vez revisada la muestra con el objetivo de 10x se repite el mismo procedimiento con el objetivo de 40x.

La revisión a 10x nos permite avanzar rápidamente en la muestra e identificar estructuras parasitarias como huevos y larvas. Posteriormente, la revisión a 40x nos

permite identificar quistes y trofozoítos de Protistas, así como poder realizar la medición de éstos.

B) Técnica de Formol-Acetato de Etilo

La técnica de concentración empleada es una modificación de la técnica de Ritchie (L. S. Ritchie, 1948). Se trata de una concentración bifásica, en la cual se obtiene un sedimento donde quedan los parásitos o sus estructuras, separado de la otra parte donde quedan retenidos los restos de la muestra fecal que no interesan para el estudio parasitológico, como son los restos orgánicos.

Se parte de muestras fijadas en formalina al 10% y almacenadas en tubos Falcon de 15 ml. Se utiliza tubos de vidrio cónicos de 10 ml, vasos de precipitado, formalina al 10%, acetato de etilo y tapones de goma.

El protocolo indica los siguientes pasos: se pone en el tubo de vidrio cónico aproximadamente de 2 a 3 ml de heces fijadas; se adiciona 4 ml de formalina 10% para obtener un volumen total de 7 ml al que se le adiciona 3 ml Acetato de Etilo (volumen final 10 ml); se procede a poner el tapón de goma al tubo; seguidamente, se agita vigorosamente para homogeneizar la muestra; se destapa y se carga en la centrífuga, de manera equilibrada, durante 5 min a 1.700 revoluciones por minuto (rpm) (**Figura 19**).



Figura 19: Técnica del Formol- Acetato de Etilo: Muestras debidamente cargadas en la centrífuga.
Fuente: Jacklyn Comas.

Al finalizar el centrifugado, se obtiene un producto en el cual se pueden distinguir 3 fases (**Figura 20**): sedimento, sobrenadante e interfase. El protocolo indica que se rompe la interfase con ayuda de una pipeta de vidrio sin tocar el sedimento y se vuelca el sobrenadante en el recipiente adecuado para la disposición de dichos residuos. Finalmente, se procede a realizar el análisis microscópico de la muestra de la misma manera que se realiza en la visión directa y utilizando los mismos elementos.



Figura 20: Técnica del Formol- Acetato de Etilo: producto de la técnica con sus 3 fases. Fuente: Jacklyn Comas.

C) Tinción Ziehl-Neelsen modificado

Esta técnica se emplea principalmente para diagnosticar coccidios (*Cryptosporidium*, *Cyclospora*, *Cystoisospora*) (Henriksen y Pohlenz, 1981). Los materiales necesarios para realizarla son: portaobjetos; asas de platino; cubetas; cestillos de tinción; carbol-fucsina; metanol; alcohol acidificado; azul de metileno; alcohol éter; y, aceite de inmersión.

El protocolo se realiza partiendo de un frotis previamente realizado del sedimento obtenido tras la técnica de Ritchie modificada. Este se hace colocando una gota en el portaobjetos y extendiéndola preferiblemente de forma circular, la cual se deja secar a temperatura ambiente durante 5 a 8 h.

Para poder hacer las tinciones se dispone de 10 láminas por cestilla, colocándose de dos en dos en cada hendidura de la cestilla, siempre de manera vertical. Una vez cargadas todas las láminas, se procede a introducir la cestilla 3 min en metanol con el fin de asegurar la fijación de la muestra. Pasado este tiempo, se retira e introduce en una cubeta con carbol-fucsina durante 10 min. Al terminar, se debe eliminar el exceso de fucsina, sumergiendo y sacando la cestilla en una cubeta con agua. Posteriormente se pasará la cestilla a una cubeta con alcohol acidificado. En este paso, las cestillas se sumergirán y sacarán en varias ocasiones de forma rápida. A continuación, se sumergen en una cubeta con azul de metileno (contra coloración o colorante de contraste) durante 1,5 min y, finalmente, se sumergen en una cubeta con agua con el fin de lavar por arrastre el exceso de azul.

Los portaobjetos se ponen a secar a temperatura ambiente de manera vertical y, una vez secos, se procede a observar las muestras con aceite de inmersión con el objetivo de 100x, en el cual se observarán los coccidios de una tonalidad roja sobre un fondo azul. (**Figura 21**).

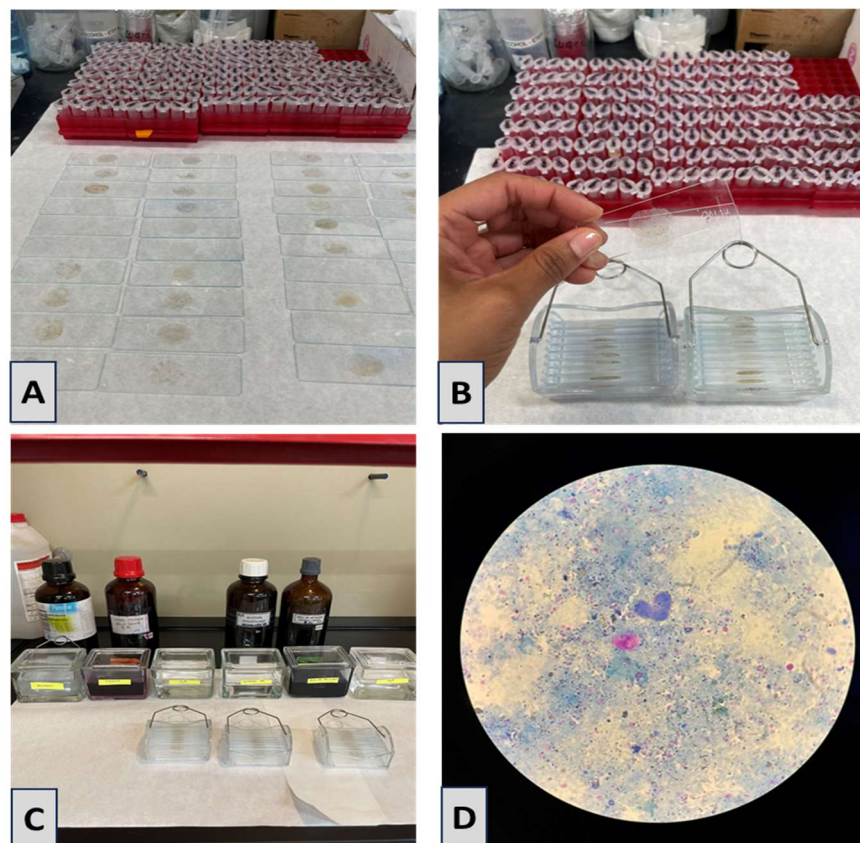


Figura 21: (A) Placas con los frotis secando; (B) Cestillas con dos placas posicionadas en cada hendidura; (C) Cestillas y cubetas con las diferentes soluciones; (D) Visión de un campo con el objetivo de 100. Fuente: Jacklyn Comas.

D) Técnica de Mini-Flotac[®]

La técnica de Mini-FLOTAC[®] fue desarrollada por el profesor Giuseppe Cringoli (University of Naples, Italy) (Cringole *et al.*, 2017). Es una técnica cuantitativa y cualitativa, utilizada principalmente en el ámbito veterinario, para detectar y cuantificar huevos, ooquistes, quistes y larvas encontrados en material fecal de animales y seres humanos. Sin embargo, en la presente Tesis Doctoral, su empleo se ha limitado a la cuantificación de huevos de helmintos.

Su principio básico es la flotación. Consiste en hacer flotar las estructuras parasitarias y/o parásitos que se encuentran en suspensión, utilizando una solución mucho más densa, de sodio o de zinc. Por tanto, se emplea para realizar identificación de parásitos o sus estructuras y el conteo de las mismas por gramo de heces.

Esta técnica ofrece una ventaja con respecto a la técnica de Kato-Katz, puesto que, para aplicarla, se puede partir de muestras fijadas con formalina.

Los materiales necesarios para esta técnica son: Discos Mini-FLOTAC[®]; pipetas; balanza; calculadora; espátula; tubos Falcon de 15 ml; vaso de precipitado; centrífuga y solución flotante (SF). En nuestro caso utilizamos cloruro de sodio NaCl 1,20 gr/ml.

El disco es un dispositivo circular de policarbonato que permite la transmisión de luz, es altamente resistente y reutilizable ya que se puede lavar muchas veces. Tiene dos cámaras de 3 ml con una llave para hacer la traslación de la suspensión flotante a la zona de lectura. A continuación, se describe todo el protocolo.

Consiste en homogeneizar la materia fecal con ayuda de una espátula, filtrarla y transferir 12 ml a un tubo Falcon de 15 ml que será centrifugado a 1.500 rpm durante 3 min. Se descarta el sobrenadante y se procede a pesar el pellet, este peso se registra en una planilla. Luego se calcula el volumen correspondiente a 0,3 gr de pellet que se vuelve a registrar en la planilla ($V = 12 \times 0,3 / \text{g del pellet}$) y se transfiere ese volumen calculado a un tubo Falcon. Se lleva hasta 12 ml con agua del grifo antes de centrifugar nuevamente a 1.500 rpm por 3 min. Se vuelve a descartar el sobrenadante y se añade hasta 6 ml de la SF, cloruro de sodio 1,20 gr/ml. Se homogeniza con ayuda de una pipeta y con esta misma, se rellena ambas cámaras de los discos procurando que no queden burbujas. Dejando además un pequeño exceso ya que se suele formar burbujas al hacer la traslación al sitio de lectura (**Figura 22**).

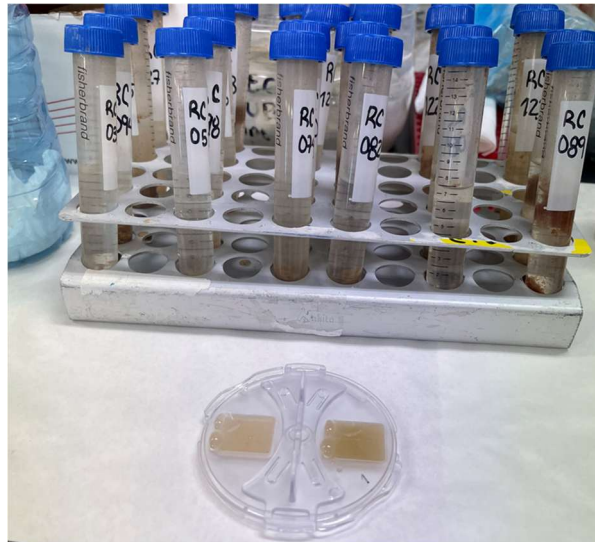


Figura 22: Disco de Mini-FLOTAC[®] donde se aprecia el exceso que se debe dejar. Fuente: Jacklyn Comas.

Se deja la muestra a temperatura ambiente durante 10 min. Pasado este tiempo se procede a girar la llave del disco, que desplazará toda la parte en flotación al sitio de lectura. Se enfoca con el microscopio óptico y se procede a hacer el conteo de huevos de helmintos y/o quistes de protistas. Este conteo se debe hacer de todas las celdillas y al final el resultado se multiplicará por un factor de 10. En caso de haber una cantidad abundante de huevos, se hará conteo de las celdillas de manera intercalada y, el resultado se multiplicará por 6 y este a su vez se multiplicará finalmente por un factor de 10 (**Figura 23**). Este resultado es la cantidad de huevos por gramo de heces (hgh) con el cual se puede establecer la intensidad de la infección según los criterios establecidos por la OMS.

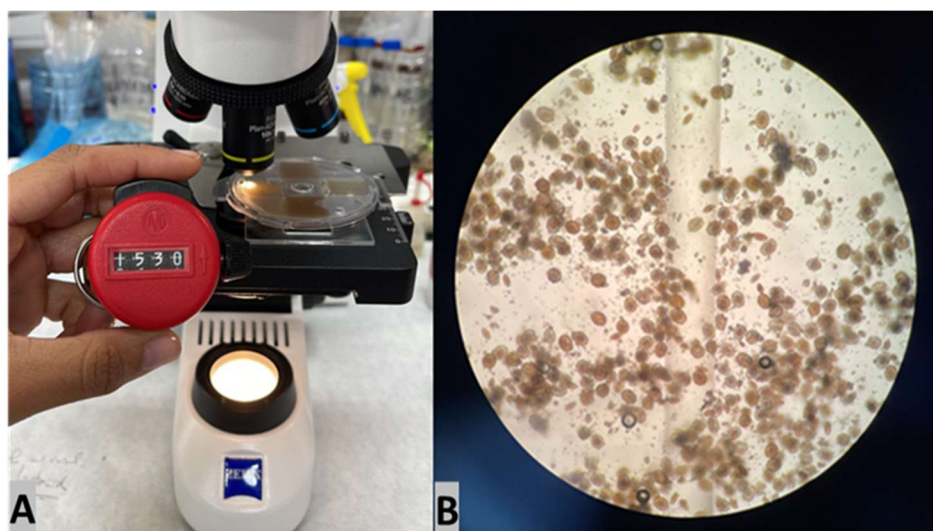


Figura 23: (A) Fotografía del conteo realizado en el disco de Mini-FLOTAC[®]; (B) Microfotografía de huevos de geohelminths en Mini-FLOTAC. Fuente: Jacklyn Comas.

2.7.3.2.- Técnicas moleculares

Como se mencionó anteriormente, algunas muestras fueron fijadas en alcohol con la finalidad de hacer caracterización molecular principalmente para *Blastocystis* sp. y *Giardia duodenalis*.

A) Lavado

Para el lavado de muestras, los materiales necesarios son: tubos Falcon de 15 ml; agua destilada; centrífuga y vaso de precipitado.

Lo primero que se debe hacer es centrifugar las muestras durante 10 min a 5.000 rpm para que el sedimento y el sobrenadante se separen. Después, se agregan al pellet 2 ml de agua destilada, se tapa el tubo, se agita para homogeneizar la muestra y facilitar su lavado. Posteriormente, se centrifuga nuevamente durante 10 min a 5.000 rpm, se retira el sobrenadante, y se congela el sedimento para preservar el material hasta su posterior concentración.

B) Concentración

Para la concentración de muestras el material a utilizar es: Kit de Parasep (Durviz S.L.); balanza; agua destilada; pipetas graduadas y tubos Eppendorf de 2 ml.

En un tubo de Parasep con 3 ml de agua destilada, se agrega dos cucharaditas de materia fecal (MF) con la cucharilla del kit. Una vez cerrado el tubo, se agita muy bien para homogeneizar la muestra sin invertir la posición del mismo. Finalmente, se cargan las muestras en la centrífuga, de manera que la parte cónica del tubo quede hacía abajo (posición invertida), se centrifuga durante 5 min a 400 rpm y se retira el sobrenadante.

Se etiqueta tubos Eppendorf de 2 ml con el número de la muestra, previamente tarados y, con ayuda de una pipeta se extrae MF hasta obtener en cada tubo Eppendorf entre 180 y 200 mg de MF. Estos se congelarán a -20° para realizar posteriormente la extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN).

C) Extracción y purificación ADN genómico

Para hacer la extracción rápida de ADN se requiere: QIAamp® FAST DNA Stool Minikit (QIAGEN®, Hilden, Alemania); micropipetas y puntas, tubos Eppendorf de 1,5 ml; termobloque; centrífuga; agitador vórtex; papel Parafilm y etanol 70°.

A las muestras previamente concentradas, se les agrega 1 ml de tampón Inhibitex (para inactivación de posibles inhibidores en el material fecal). Se les realiza vórtex durante 1 min para homogeneizar MF. Los tubos Eppendorf se sellan con Parafilm para ser incubados a 95°C y 300 rpm durante 5 min en el termobloque. Al culminar este tiempo, se retiran las muestras. Se les realiza vórtex por 20 s y se llevan a la centrifuga a 1.300 rpm durante 1 min.

A continuación, se etiqueta los tubos Eppendorf de 1,5 ml, a los que se les añadirá 15 microlitros (µl) de proteinasa K. Posteriormente, se añade 200 µl de la muestra centrifugada a estos tubos Eppendorf, se les realiza vórtex durante 20 s. Se añade 200 µl de Tampón AL seguido de otro vórtex de 20 s para llevar a incubar al termobloque nuevamente, a 70°C y durante 10 min.

Al retirar las muestras del termobloque, se añade 200 µl de etanol 70° seguido de un vórtex de 15 segundos. Se etiqueta las columnas del kit y el contenido de los tubos Eppendorf se deposita en su totalidad en el centro de las mismas. Se centrifuga las muestras nuevamente durante 1 min a 13.000 rpm. Después, se cambia el tubo colector, se añade al centro de la columna 500 µl de Tampón AW1, se centrifuga nuevamente durante 1 min a 13.000 rpm y se cambia el tubo colector. Se añade a la muestra 500 µl de Tampón AW2 en el centro de la columna, se centrifuga durante 3 min a 13.000 rpm. Se vacía el tubo colector y se centrifuga durante 1 min a 13.000 rpm.

Para terminar, se etiqueta nuevos tubos Eppendorf de 1,5 ml, a los que se pasará las columnas para agregar 50 µl de Tampón AE. Se dejará incubando durante 1 min a temperatura ambiente y se centrifugará durante 1 min a 13.000 rpm. Finalmente, se repetirá el paso explicado anteriormente.

De esta manera se obtendrá un total de 100 µl de ADN que se deberá congelar a -20°C, salvo que se vaya a realizar PCR en las siguientes 24 h.

D) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa, utilizada en biología molecular, permite amplificar rápidamente miles de millones de un segmento específico de ADN mediante el uso de fragmentos sintéticos llamados cebadores (*primers*). Las amplificaciones o copias, se realizan en 3 fases: Desnaturalización del ADN molde; hibridación con los cebadores específicos y la elongación de las nuevas moléculas de ADN. A partir de esto, se puede hacer visualización del ADN mediante técnicas de análisis como la

electroforesis en gel de agarosa. Esta técnica es fácil de realizar, altamente sensible y, específicamente, permite estudiar detalladamente moléculas de ADN en el laboratorio.

En la **Tabla 5** se recoge el listado de cebadores (incluyendo sondas) utilizados para la detección y caracterización molecular de las especies protistas investigadas en este estudio.

D.1.) Detección y caracterización de *Giardia duodenalis*

Para realizar la detección de ADN de *G. duodenalis*, se utilizó un protocolo de qPCR consiguiendo amplificar un fragmento de 62 pares de base (pb) del gen ssu rRNA del mismo parásito (Verwei *et al.*, 2003). El volumen final de cada reacción fue de 25 µl, de los cuales 3 µl corresponden a la cantidad de ADN. En cuando a los cebadores, se utilizaron Gd-80F y Gd-127R en concentración de 10 µM de cada uno. Además, se añadió una sonda de hidrólisis TaqMan® de marcaje doble (incluyendo fluorocromo FAMTM en el extremo 5 y el apagador BHQ1TM en el extremo 3) en una cantidad de 0,5 µl y 12,5 µl de tampón TaqMan® Gene expressio Master Mix (MM) (Applied Biosystems). La amplificación se realizó mediante un procedimiento consistente en un paso previo de 2 min a 55°C, 15 min a 95°C seguido de 45 ciclos de 15 segundos a 95°C y 1 minuto a 60°C. La fluorescencia (FAMTM 510 nm) se determinó al finalizar cada etapa de la hibridación en todos los ciclos de amplificación.

Tras la identificación de las muestras positivas para *G. duodenalis* mediante la qPCR, estas fueron analizadas nuevamente utilizando una estrategia de tipificación multilocus de secuencias (MLST en inglés), para ello se utilizaron los marcadores genéticos glutamato deshidrogenasa (*gdh*), beta-giardina (*bg*) y triosa fosfato isomerasa (*tpi*).

Para el caso de *gdh*, la PCR realizada fue semi anidada, en la cual se amplifica un fragmento del gen de 432 pb. La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 25 µl, donde la cantidad de ADN molde fue de 5 µl, los cebadores empleados en esta reacción fueron GDHeF y GDHiR para la reacción primaria. A continuación, para la reacción secundaria fueron GDHiF y GDHiR. En ambos casos la concentración de los cebadores fue de 10 µM y la cantidad utilizada 1,25 µl de cada uno. Los protocolos consistieron en un primer paso de 95°C por 3 min, seguido de 35 ciclos a la misma temperatura por 3 segundos para lograr la desnaturalización, continuando a 55°C por otros 30 segundos para la hibridación, seguido de 1 minuto a 72°C para lograr la elongación, finalmente la extensión del producto se realiza durante 7 min a 72°C.

Tabla 5. Recopilación de oligonucleótidos (sondas y cebadores) utilizados para la detección y/o caracterización molecular de las especies de protistas entéricos estudiadas. Fuente: Chozas *et al.* (2023).

Especie	Marcador	Oligonucleótido	Secuencia (5'-3')	Referencia
<i>Giardia duodenalis</i>	<i>ssu</i> rRNA	Sonda Gd-80F Gd-127R	FAM-CCCGCGGCGGTCCCTGCTAG-BHQ1 GACGGCTCAGGACAACGGTT TTGCCAGCGGTGTCCG	Verweij <i>et al.</i> , 2003a
	<i>gdh</i>	GDHeE GDHiF GDHiR	TCAACGTYAAYCGYGGYTTCCGT CAGTACACCTCYGCTCTCGG GTTRTCCTTGACATCTCC	Read <i>et al.</i> , 2004
	<i>bg</i>	G7_F G759_R G99_F G609_R	AAGCCCGACGACCTCACCCGAGTGC GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC GAACGAACGAGATCGAGGTCCG CTCGACGAGCTTCGTGTT	Lalle <i>et al.</i> , 2005
	<i>tpi</i>	AL3543 AL3546 AL3544 AL3545	AAATATGCCTGCTCGTCG CAAACCTTITCCGCAAACC CCCTTCATCGGIGGTAACCT GTGGCCACCACICCCGTGCC	Sulaiman <i>et al.</i> , 2003
<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>ssu</i> rRNA	CR-P1 CR-P2 CR-P3 CPB-DIAGR	CAGGGAGGTAGTGACAAGAA TCAGCCTTGCGACCACTC ATTGGAGGGCAAGTCTGGTG TAAGGTGCTGAAGGAGTAAGG	Tiangtip y Jongwutiwes, 2002
<i>Cryptosporidium hominis/parvum</i>	<i>gP60</i>	AL-3531 AL-3535 AL-3532 AL-3534	ATAGTCTCCGCTGTATTC GGAAGGAACGATGTATCT TCCGCTGTATTCTCAGCC GCAGAGGAACCAGCATC	Feltus <i>et al.</i> , 2006
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	<i>ssu</i> rRNA	Sonda Eh Sonda Ed	FAM-TCATTGAATGAATTGGCCATTT-MGB VIC-TTACTTACATAAATTGGCCACTTTG-MGB	Gutiérrez-Cisneros <i>et al.</i> , 2010
		Ehd-239F Ehd-88R	ATTGTCGTGGCATCCTAACTCA GCGGACGGCTCATTATAACA	Verweij <i>et al.</i> , 2003b
<i>Blastocystis</i> sp.	<i>ssu</i> rRNA	RD5 BhRDr	ATCTGGTTGATCCTGCCAGT GAGCTTTTAACTGCAACAACG	Scicluna <i>et al.</i> , 2006
<i>Cystoisospora</i> spp.	<i>ITS1 rDNA</i>	ITSF EMR7 ITSGF ITSR2	CCGTTGCTCCTACCGATTGAGTG GCATTCGCTGCGTCCTTCATCG GATCATTACACGTGGCCCTTG GACGACGTCCAAATCCACAGAGC	Samarasinghe <i>et al.</i> , 2008
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	<i>ITS/ssu</i> rRNA	EBITS3 EBITS4 EBITS1 EBITS2.4	GGTCATAGGGATGAAGAG TTCGAGTTCTTCGCGCTC GCTCTGAATATCTATGGCT ATCGCCGACGGATCCAAGTG	Buckholt <i>et al.</i> , 2002
<i>Encephalitozoon</i> spp.	<i>ssu</i> rRNA	MicF1 MicR1	CACCAGTTGATTCTGCCTGA CCTCTCCGGAACCAAAACCCTG	Fedorko <i>et al.</i> , 1995

En los casos de los marcadores *bg* y *tpi*, las PCR realizadas fueron anidadas. Para *bg*, el fragmento del gen a amplificar era de 511 pb, el volumen final de la reacción fue de 25 µl, el ADN molde fue de 3 µl. Los cebadores utilizados para la primera reacción fueron G7_F y G759_R y, para la segunda reacción, fueron G99_F y G609_R. En ambos casos la concentración fue de 10 µM y la cantidad utilizada de los cebadores fue de 1 µl de cada uno. En cuanto al protocolo, la primera PCR tuvo un paso inicial de 7 min a 95°C, seguidos de 35 ciclos a la misma temperatura durante 30 segundos para la desnaturalización, la hibridación consistió en 30 segundos a 65°C y la elongación de 1 min a 72°C, finalmente una extensión durante 7 min a 72°C. Para la segunda PCR, el protocolo fue igual con la excepción de que la temperatura de hibridación fue de 55°C.

El protocolo para la PCR anidada del marcador genético *tpi*, amplifica un fragmento del gen de 530 pb. Para la primera reacción, el volumen final de la reacción fue de 50 µl, en el cual, la cantidad de ADN molde fue de 2 µl. Los cebadores utilizados en la primera reacción fueron AL3543 y AL3546 y, para la segunda reacción, se utilizaron AL3544 y AL 3545. En ambos casos la concentración de los mismos fue de 10 µM, utilizando 1 µl de cada uno. Para ambos casos, la amplificación tuvo un paso inicial de 5 min a 94°C, seguido de 35 ciclos durante 45 s a la misma temperatura para la desnaturalización, luego, la hibridación que consistió en 45 s a 50°C, posteriormente la elongación que se realizó durante un minuto a 72°C y finalmente una extensión durante 10 min a 72°C.

Los materiales necesarios para realizar las PCR son: gradillas con hielo; micropipetas y puntas; cebadores; dNTPS (soluciones de trifosfatos de desoxirribonucleótido); alícuotas de agua destilada autoclavadas; tubos Eppendorf de 0,2 ml y 1,5 ml y termociclador MiniCycler™ (MJ Research, Watertown, MA, EUA).

En el laboratorio, se realiza MM multiplicando las cantidades referidas anteriormente según el número de muestras a procesar, añadiendo 2 más de error, de la siguiente manera: se toma una alícuota de agua destilada, en un tubo Eppendorf de 1,5 ml previamente rotulado como MM; se pipetea los cebadores y el ADN polimerasa MyTAQ™ enzima (MyTaq); se realiza vórtex por 15 segundos seguido de un spin y, se procede a servir las cantidades exactas para cada muestra en los tubos Eppendorf de 0,2 ml a los que, posteriormente, se añade la cantidad de ADN indicada en la reacción (5 µl). El volumen final para cada uno de estos será de 25 µl. Se les realizará un spin y se pondrá en el termociclador Minicycler™ (MJ Research, Watertown, MA EUA)

de manera equilibrada y con las condiciones térmicas mencionadas anteriormente según sea la PCR (directa o anidada).

D.2.) Detección y caracterización de *Blastocystis* sp.

Para realizar la detección de *Blastocystis* sp. se procedió con un protocolo de PCR directa para la amplificación de un fragmento de 600 pb cuya diana es el gen *ssu* rRNA del parásito (Scicluna *et al.*, 2006). Los amplicones que se obtienen de la secuenciación Sanger de esta PCR permite identificar la especie y el subtipo del parásito. Para ello, la reacción se realizó en un volumen total de 25 µl que contenía 5 µl del ADN molde, 1,25 µl de cada uno de los cebadores pan-*Blastocystis* RD5 y BhRD_r, con una concentración de 10 µM. La amplificación tuvo un paso inicial de 3 min a 95°C, seguido de 30 ciclos a 94 °C durante 1 min para la desnaturalización, luego la hibridación a 59°C durante 1 minuto, la elongación durante 1 min a 72°C y finalmente la extensión durante 2 min a 72°C.

Para la realización de esta PCR se necesita: Cebadores para *Blastocystis* sp.; micropipetas y puntas; ADN previamente extraído; alícuotas de agua destilada autoclavadas; gradillas congeladas; termociclador y tubos Eppendorf de 0,2 ml y 1,5 ml. La marcha analítica en el laboratorio coincide con la descrita anteriormente para la PCR de *G. duodenalis*.

D.3.) Diagnóstico diferencial del complejo *Entamoeba*

Para el diagnóstico diferencial de *E. histolytica* o *E. dispar* se utilizó una qPCR amplificando un fragmento de 172 pb del marcador molecular *ssu* rARN del parásito. La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 25 µl conteniendo 3 µl de ADN molde. Los cebadores utilizados fueron Ehd-239F y Ehd-88R (común a ambas especies) en concentración de 0,5 µM, con las sondas de hidrólisis TaqMan® de doble marcaje FAMTM/MGBTM (*E. histolytica*) y VICTM/MGBTM (*E. dispar*) ambas en concentración de 0,2 µM y 12,5 µl del tampón TaqMan® Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems). El protocolo de amplificación consistía en un paso previo de 2 min a 55°C y 15 min a 95°C seguido de 45 ciclos de 15 s a 95°C y 1 min a 60°C. Las señales de fluorescencia (FAMTM: 510 nm y VICTM: 580 nm) fueron determinadas al final de la etapa de hibridación en cada ciclo de amplificación.

D.4.) Detección y caracterización de *Cryptosporidium* sp.

Para detección de muestras positivas, se utilizó un protocolo de PCR anidada que amplifica un fragmento de 587 pb del gen *ssu* rARN (Tiangtip y Jongwutiwes 2002). La reacción se realizó en un volumen final de 50 µl que contenían 3 µl del ADN molde, para

ello se utilizaron los cebadores CR-P1/CR-P2 para la reacción primaria y CR-P3/CPB-DIAGR para la reacción secundaria en una concentración de 10 μ M y una cantidad de 1,5 μ l de cada uno. El paso inicial del protocolo de amplificación fue de 94°C durante 3 min, seguido de 35 ciclos a 94°C durante 40 s para la desnaturalización, luego, 50°C durante 40 s para la hibridación, posteriormente, 72°C durante 1 min para la elongación y finalmente, 72°C durante 10 min.

Para la caracterización molecular a nivel de familia y genotipo, se utilizó un protocolo de PCR anidada amplificando un fragmento de 870 pb del marcador molecular *gp60* del parásito (Feltus *et al.*, 2006). La secuenciación Sanger de los amplicones obtenidos en esta PCR permite identificar la especie.

La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 50 μ l conteniendo 2 μ l de ADN molde en la primera PCR y 3 μ l en la segunda PCR. Los cebadores utilizados en la primera reacción fueron AL-3531_F/AL-3535_R y, para la segunda reacción fueron AL-3532_F/AL-3534_R, ambas en concentración de 0,3 μ M. El protocolo de amplificación de la primera PCR consistía en un paso inicial a 94°C durante 5 min seguido de 35 ciclos a 94°C durante 45 s (desnaturalización), 59°C durante 45 s (hibridación) y 72 °C durante 1 min (elongación), con una extensión final a 72°C durante 10 min. El protocolo de amplificación de la segunda PCR era idéntico al descrito anteriormente con la única diferencia de que la temperatura de hibridación era de 50°C.

D.5.) Detección y caracterización de *Cystoisospora* spp.

Para la detección y caracterización de *Cystoisospora*, se utilizó un protocolo PCR (Chozas *et al.*, 2023), amplificando un fragmento de 450 pb del gen ITS1-rARN del parásito. La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 25 μ l, conteniendo 2 μ l del ADN molde, los cebadores utilizados para la primera reacción fueron ITSF_F/EMR7_R y para la segunda reacción ITSGF_F/ITSR2_R en una concentración de 10 μ M. El protocolo de la amplificación para la primera PCR consistía en tres pasos previos iniciando con 94°C durante 2 min, seguido de 62°C durante 1 min, 72°C durante 2 min y finalmente 45 ciclos de la siguiente manera: 94°C durante 30 s para la desnaturalización, seguido de 62°C durante 20 s para lograr la hibridación, 72°C durante 35 s para la elongación y finalmente una extensión a 72°C durante 7 min. Para la segunda PCR el protocolo es igual a este, con la diferencia de que los ciclos son de 30 y la temperatura para lograr la hibridación es de 55°C. Para la segunda PCR el protocolo es igual, cambiando la temperatura del segundo paso a 68°C y la temperatura de la hibridación 68°C.

D.6.) Detección y caracterización de *Enterocytozoon bieneusi*

Para la detección y caracterización de *E. bieneusi* se utilizó un protocolo de ITS PCR, amplificando un fragmento de 390 pb del marcador molecular *ssu* rARN del parásito (Buckholt *et al.*,2002). La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 50 µl, conteniendo 1 µl del ADN molde, los cebadores utilizados para la primera reacción fueron EBITS3 y EBITS4 y para la segunda reacción EBITS1 y EBITS2.4 en una concentración de 10 µM. El protocolo de la amplificación para la primera PCR consistía en un paso previo a 94°C durante 3 min, seguido de 35 ciclos a 94°C durante 30 s para la desnaturalización, seguido 57°C durante 30 s para lograr la hibridación, 72°C durante 40 s para la elongación y finalmente una extensión a 72°C durante 10 min. Para la segunda PCR el protocolo es igual a este, con la diferencia de que los ciclos son de 30 y la temperatura para lograr la hibridación es de 55°C.

D.7.) Detección y caracterización de *Encephalitozoon* spp.

Para la detección y caracterización de *Encephalitozoon* spp. (*Encephalitozoon cuniculi*, *Encephalitozoon hellem*, *Encephalitozoon intestinalis*) se utilizó un protocolo de simple PCR. La PCR utilizó el par de cebadores Mic-F1/Mic-R1 que amplificaban un fragmento de 268 - 279 pb del gen *ssu* rARN. La PCR se llevó a cabo en un volumen de 25 µl, Las condiciones de la PCR consistían en: un paso inicial a 95°C durante 15 min, seguido de 45 ciclos a 94°C durante 60 s, 54°C durante 90 s, 72°C durante 90 s y finalmente 72°C durante 10 min.

E) Electroforesis en gel de agarosa

Para realizar la electroforesis en gel de agarosa se utilizará: agarosa; solución TAE1x (Tris base 48,1 g/l, ácido acético 1,14% y EDTA 10 µM); agente intercalante emisor de fluorescencia (Safe View); equipo de electroforesis; Erlenmeyer de 50 ml; micropipetas y puntas; tampón de carga 6x (LD); estándar de peso molecular; control positivo; papel Parafilm y ADN amplificado.

La electroforesis es una técnica muy utilizada para separación y caracterización de moléculas, especialmente ácidos nucleicos en función de su tamaño, carga y forma. La muestra de ADN es cargada en pozos realizados en un extremo del gel, al que se le aplicará corriente eléctrica la cual provocará un arrastre de la molécula de ADN en función de su peso molecular durante un tiempo determinado. Esto sucede debido a que los fragmentos tienen carga negativa, que será atraída por los electrodos positivos. La

finalidad de la electroforesis es validar si la PCR logró la amplificación del fragmento de ADN procesado. El tamaño de los productos amplificados en la PCR (pares de bases) se determinará gracias al estándar de peso molecular que tendrá fragmentos conocidos de distinto tamaño.

El gel se prepara disolviendo agarosa en una solución tampón (TAE 1x). La mezcla se pondrá a calentar por algunos minutos para una completa homogeneización, se dejará enfriar a 37°C para agregar la solución colorante de nucleótidos (Safe View). Esto con la finalidad de que el colorante no pierda sus propiedades. A continuación, esta solución se verterá en un recipiente adecuado, que garantiza que el gel quede completamente plano, nivelado y con las dimensiones necesarias. A este gel, se le pondrá un molde con forma de peine que servirá para formar los pozos que posteriormente se llenarán con las muestras (**Figura 24**). Una vez puesto el molde, se deja solidificar el gel por al menos 20 min. Se deberá cubrir con papel aluminio debido a la fotosensibilidad del colorante.

El gel solidificado tendrá una apariencia opaca. Se procederá a retirar el molde, quedando los pozos perfectamente formados y se sumergirá en la solución tampón, verificando que los pocillos se rellenen con esta solución.

Para cargar las muestras en el gel, se coloca sobre una tira de papel parafilm 2 µl del LD, por cada una de las muestras a procesar junto con el control positivo (C+) y el marcador de peso molecular. En el caso del control positivo se pondrá 2 µl y, en el caso del estándar 5 µl. Para cada una de las muestras se pondrá 10 µl de ADN. Se carga inmediatamente la cantidad total en cada uno de los pozos del gel, teniendo cuidado de no perforarlo con la punta de la pipeta. Cuando todas las muestras quedan cargadas, se tapa el contenedor del recipiente de electroforesis, verificando que los electrodos estén en posición correcta de dirección de la corriente. Se conecta a 70 voltios, se cubre todo con papel aluminio y se deja correr durante al menos 35 min.

Una vez transcurrido este tiempo. Se apaga la corriente del equipo y se retira el gel teniendo cuidado de no romperlo. En ese mismo momento, si la muestra se ha procesado correctamente, se deben visualizar barras de color azul perfectamente alineadas. Se procede entonces a encender el equipo de luz ultravioleta (ChemiDoc™, Bio-Rad), para ver las bandas de ADN de color verde fluorescente (**Figura 25**).

Cabe señalar que, el gel de agarosa para realizar electroforesis de las muestras de *Blastocystis* sp. y *G. duodenalis* es al 2%.

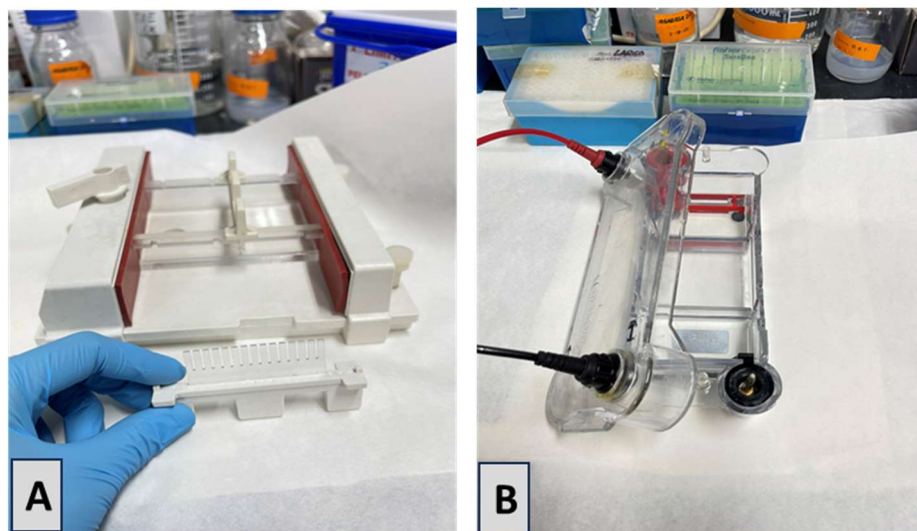


Figura 24: Equipo de electroforesis: (A) recipiente para el gel y peines para formar pocillos; (B) Recipiente de electroforesis con solución tampón. Fuente: Jacklyn Comas.

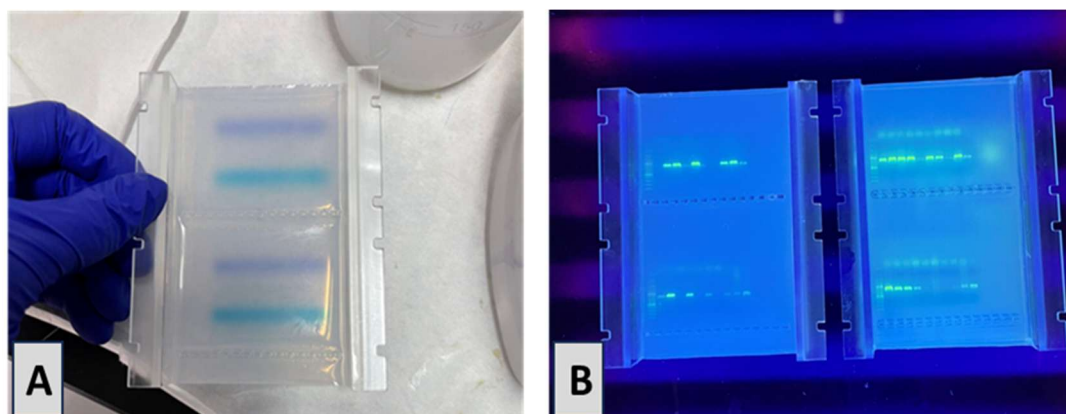


Figura 25: (A) Gel de agarosa posterior a la electroforesis; (B) Visualización del gel en el equipo de luz ultravioleta. Fuente: Jacklyn Comas.

F) Purificación ADN

Todas las muestras cuyo ADN fue evidenciado en gel de agarosa, pasaron por un proceso de purificación previo a la secuenciación. El ADN está constituido por dos cadenas de nucleótidos que unidos entre sí forman una doble hélice. A su vez, los nucleótidos están conformados por azúcar, fosfatos y bases nitrogenadas que al unirse forman el esqueleto de la molécula, la cual, en sus componentes, tienen unas características fisicoquímicas que hacen que se adhieran biomoléculas o partículas que dificultarán o impedirán el tratamiento posterior de la misma. Por ello, es necesario realizar la purificación de ADN con el fin de eliminarlas mediante la utilización de soluciones preparadas que son capaces de retener la molécula de ADN y separarla del resto de biomoléculas.

Para realizar la purificación de ADN se necesita: Mi-PCR Purification Kit (Metabion); tubos Eppendorf de 1,5 ml; micropipetas y puntas; agitador vórtex y centrífuga.

El procedimiento se inicia pipeteando 10 µl de ADN en los tubos Eppendorf de 1,5 ml previamente etiquetados, a los cuales se añade 500 µl de Tampón Px, seguido de un vórtex de 20 s. Luego se pipeteará todo el contenido en las columnas previamente etiquetadas (incluidas en el kit). Se centrifugará a 13000 rpm durante 1 min y se descartará los residuos del tubo colector. Posteriormente, se añade a la columna 500 µl de Tampón WN seguido de un centrifugado a 13000 rpm durante 1 min. Se descarta los residuos y se añade 500 µl de Tampón WS seguido de un centrifugado a 13000 rpm durante 5 min. Al terminar el centrifugado se descarta los residuos.

Las columnas serán colocadas en los nuevos tubos Eppendorf y se les añadirá 15 µl de Tampón EB (*Elution Buffer*) seguido de un tiempo de incubación de 2 min a temperatura ambiente. Se centrifugará a 13000 rpm durante 2 min y finalmente se descartará las columnas. El resultado final será el ADN purificado. Este deberá permanecer en nevera a 4°C si se hará secuenciación dentro de las siguientes 24 h, de lo contrario se deberá congelar a -20°C.

G) Secuenciación Sanger

Para la secuenciación se necesita un mínimo de 2 µl de cada uno de los cebadores en concentración de 5 µM para cada muestra junto con 15 µl de ADN purificado. Todas las muestras purificadas, con sus respectivos cebadores, fueron enviadas al edificio de Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental (SCSIE) en donde realizaron las secuenciaciones Sanger mediante electroforesis capilar con BigDye® Terminator Chemistry (Applied Biosystems) en ambas direcciones sentido y anti sentido (F y R) utilizando los primers descritos para las PCR y un secuenciador automatizado ABI PRISM 3130.

Una vez recibidas las lecturas de las secuencias, se procedió a realizar el análisis de los datos. La visualización gráfica de las secuencias se realizó a través del software Chromas, software gratuito en su versión 2.6.6 (Technelysium Pty Ltd., South Brisbane, Australia) (**Figura 26**) y con el software gratuito Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) versión 11.0.13 (Tamura *et al.*, 2021) se realizó una comparación de las secuencias junto con la herramienta online Public databases for molecular typing and microbial genome diversity (PubMLST).

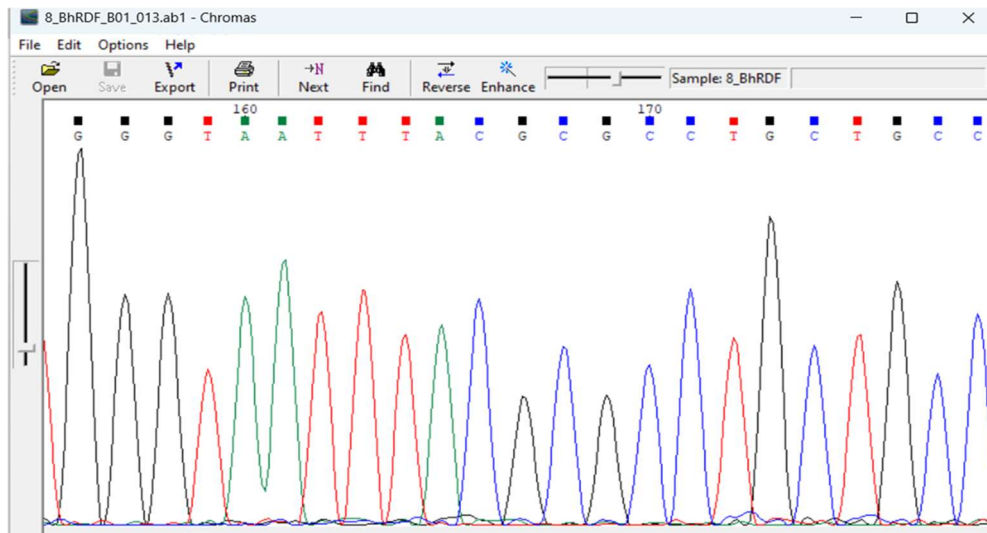


Figura 26: Visualización de una secuencia sentido (forward) de *Blastocystis* sp. Fuente: Jacklyn Comas.

La comparación de las secuencias, utilizando el software de Análisis Genético Evolutivo Molecular (MEGA) (Kumar *et al.*, 2018), se realizó utilizando ambas lecturas F y R alineadas en la misma dirección. Se verificó el alineamiento de las dos secuencias disponibles (sentido y anti sentido), la secuencia más larga y completa (sin errores) que fue considerada como secuencia consenso. Esta, se utilizó para comparar con las referencias existentes en las bases de datos mundiales y de esta manera, hacer la identificación de los subtipos y genotipos (**Figura 27**).

Para el caso de *Blastocystis* sp., la secuencia consenso se depositó en la base de datos del repositorio público Blastocystis, (PubMLST) disponible en la página web https://pubmlst.org/bigscdb?db=pubmlst_blastocystis_seqdef&page=sequenceQuery. Donde de manera totalmente automatizada se realiza la comparación de las secuencias hasta encontrar una idéntica o muy similar y, en cuestión de segundos se identifica el subtipo y alelo de nuestra muestra de ADN (**Figura 27**).

M11: Alignment Explorer

Data Edit Search Alignment Web Sequencer Display Help

DNA Sequences Translated Protein Sequences

Species/Abbrv

1. 8_BhRDF

2. 8_RD5

A

Secuencia consenso

PubMLST Public databases for molecular typing and microbial genome diversity

HOME

Home > Organisms > *Blastocystis* spp. > *Blastocystis* typing > Sequence query

Sequence query

Please paste in your sequence to query against the database. Query sequences will be checked first for an exact match against the chosen matches will be identified if an exact match is not found. You can query using either DNA or peptide sequences. ⓘ

Please select locus/scheme — Order results by —

All loci locus

Enter query sequence (single or multiple contigs up to whole genome in size)

Alternatively upload FASTA file

Select FASTA file: ⓘ

Click to select or drag and drop...

1 exact match found.

[Translate query](#)

B

Locus	Allele	Length	Contig	Start position	End position	Attributes	Comments
18S rRNA barcode	11	350	Query	104	453	subtype: ST2	

Figura 27: (A) Comparación de las secuencias sentido y anti sentido de una muestra positiva para *Blastocystis* sp.; (B) Búsqueda en la base de datos de la secuencia consenso y su resultado. Fuente: Jacklyn Comas

En el caso de *G. duodenalis*, se utilizaron secuencias de referencia (**Figura 28**), las cuales fueron compartidas por el Dr. David Carmena del Instituto de Salud Carlos III. De forma manual, se fueron descartando las secuencias que presentaban mayores diferencias hasta seleccionar la más idéntica a la secuencia consenso, definiendo el genotipo.

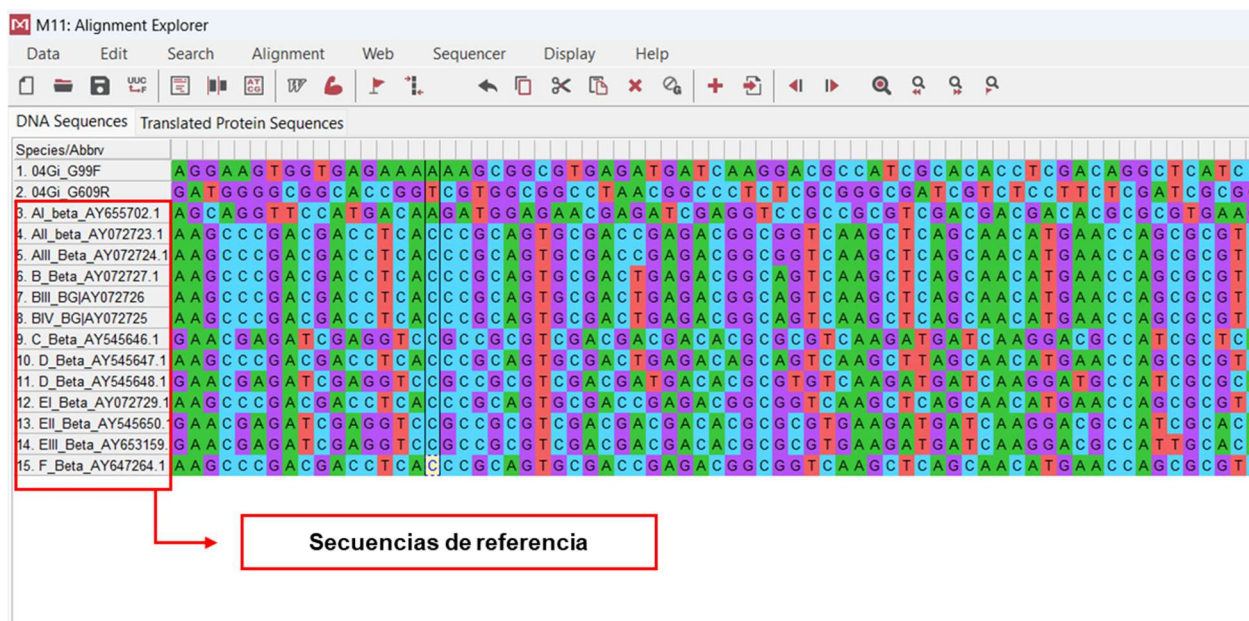


Figura 28: Secuencias sentido y anti sentido de muestra positiva para *Giardia duodenalis* con el marcador genético *bg* y secuencias de referencia. Fuente: Jacklyn Comas

2.8.- Análisis estadístico

En este apartado se procederá a describir el procesamiento estadístico aplicado para analizar datos parasitológicos.

El elevado número de cuestionarios epidemiológicos incompletos disponibles, impidió el uso de la información contenida en dichas encuestas para estudios estadísticos. Solo se pudo tener en cuenta datos relativos al sexo y edad. Además, en algunas de las islas estudiadas se pudo contar con el dato de la consistencia del material fecal.

2.8.1.- Base de datos, tabulación y gráficos

Para organizar los resultados obtenidos se realizó una base de datos en el Excel 2024/Hojas de cálculo de Google, donde se realizó la tabulación de la información de cada una de las muestras obtenidas de manera que se facilitara la clasificación. Asimismo, se utilizó Excel 2024 para elaborar los gráficos de los resultados obtenidos.

2.8.2.- Tratamiento estadístico

El tratamiento estadístico de los datos se ha realizado con el programa Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health OpenEpi, Versión 3.01. (OpenEpi) es un software gratuito y de código abierto para estadísticas sobre epidemiología, que se

ejecuta desde un servidor web. Es un proyecto de código abierto que puede sustituir y/o complementar otros programas estadísticos de uso habitual, pese a no ser un producto directo de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) tienen comunicación frecuente y los mismos objetivos. Las muestras fueron tratadas con estadística tanto descriptiva como inferencial con los test que se describen a continuación.

2.8.2.1.- Estadística descriptiva

Esta estadística recoge, procesa, presenta y analiza la información de la población que se pretende estudiar y da los resultados de la situación general de cada población, lo cual permite analizar y posteriormente hacer comparaciones (Martínez-Vaca., 2003).

Utilizando esta estadística, se calculó la prevalencia (proporción) en un período de tiempo, al tratarse de un estudio puntual (Hernández, Fernández, y Baptista, 2007). Se calcula a partir de la proporción de menores infectados con alguna especie parásita, dividido por la totalidad de menores que conforman este estudio. A su vez, esa proporción es multiplicada por 100 para obtener así un porcentaje de infección por cada especie. Dicho de otra manera, la forma de calcular es la siguiente:

$$\text{Prevalencia} = (\text{N}^{\circ} \text{ parasitados} / \text{Total individuos del estudio}) \times 100$$

Las prevalencias sirven para formar estadísticas de riesgo para futuras intervenciones que puedan prevenir las infecciones. Se ha trabajado igualmente con frecuencia y distribución que se define como una disposición de datos estadísticos tabulados y ordenados en un orden que puede ser ascendente o descendente, de acuerdo con frecuencia de los datos (Hernández, Fernández, y Baptista, 2007).

2.8.2.2.- Estadística inferencial

Esta estadística se utiliza para hacer una predicción de algo que podría ocurrir, partiendo de la información obtenida de la estadística descriptiva (Martínez-Vaca, 2003). La estadística inferencial representa las relaciones entre un conjunto de variables relacionándolas entre sí y prediciendo valores esperados de alguna variable o un grupo de ellas. La inferencia va de la mano de una probabilidad de acierto, esto es la probabilidad de equivocarse debido a que no existe la evidencia total. En este estudio el nivel de significancia establecido fue del 0,05 ($p\text{-valor}=0,05$), lo cual quiere decir que la hipótesis sugerida tiene un 95% de fiabilidad y solamente un 5% de equivocación.

De igual forma, también se aplicó a estas muestras el cálculo del intervalo de confianza, que es un conjunto de valores a partir de una muestra, dando la posibilidad de que el parámetro medido se encuentre dentro de dicho intervalo con un nivel de confianza que permite esperar que el 95% de población contenga la medida y el 5% restante no lo contendría, lo que quiere decir que, si el estudio se repitiera 100 veces, el 95% de las prevalencias incluiría el valor del parámetro.

2.8.2.3.- Prueba de chi cuadrado (χ^2)

El tratamiento estadístico que se utilizó para comprobar la hipótesis acerca de la relación entre dos o más variables, es decir, el grado de asociación entre diferentes variables epidemiológicas fue la prueba de chi cuadrado (χ^2). Esta prueba evalúa la hipótesis acerca de la relación de dos variables sin indicar el grado o el tipo de relación, esta prueba no indica el porcentaje de una variable sobre otra y tampoco la causa de la influencia.

Para hacer el cálculo, se suele utilizar una tabla 2x2, cuando sólo se comparan dos variables (sexo); cada variable aparece a un lado de la tabla con sus respectivos valores positivos y negativos. De esta manera se logra identificar si hay o no diferencias estadísticamente significativas entre los resultados y las variables epidemiológicas comparadas. Cuanto mayor sea el valor de la χ^2 obtenido menos seguro es que la hipótesis sea correcta y cuanto más se aproxime al resultado de cero más segura resultará la hipótesis.

En el caso de que la comparación se realice entre más de dos variables (edades) se utiliza una tabla FxC (dos columnas), en este caso, los valores positivos y negativos se encuentran uno en frente del otro.

Cuando se calcula χ^2 en un paquete estadístico computacional, el resultado se muestra con su respectiva significancia, en caso de que esta sea menor de 0,05 ($p < 0,05$), la hipótesis es aceptada.

2.8.2.4.- Prueba t de student

Este test es paramétrico. Se utiliza para comparar medias de una variable numérica (variable dependiente) en relación a una variable nominal (variable independiente) que se puede representar solo por dos valores. Cuando se acepta una hipótesis nula, se asume que no hay diferencias significativas entre las medidas de las dos variables

comparadas. Al ser paramétrico, admite la distribución de datos de cada grupo y también varianzas iguales en los dos grupos.

El test t de student se utilizó para buscar significancia estadística en cuanto a la intensidad de la infección por geohelminthos entre las islas, considerando que existe diferencia estadísticamente significativa cuando el resultado tenía un valor de $p < 0,05$.

Para realizar el test t de student, se tomaron los siguientes datos: tamaño de una muestra, media y desviación estándar de cada grupo de variables a comparar para posteriormente introducirlos en el software OpenEpi donde se obtiene el valor estadístico.

2.8.2.5.- Tests no paramétricos

Dado el escaso número de muestras disponibles en algunas islas analizadas, se consideró aplicar pruebas estadísticas no paramétricas en estos casos. La elección de estos test busca preservar la validez de los análisis sin comprometer la integridad estadística de los resultados, adaptándose a las limitaciones impuestas por el tamaño muestral reducido. Este enfoque resulta adecuado en contextos donde no se garantiza el cumplimiento necesario para la aplicación de test paramétricos, los cuales necesitan tamaños muestrales mayores para su validación.

En el caso de los datos cualitativos, el test no paramétrico más idóneo a aplicar es el test exacto de Fisher, adecuado para tablas de contingencia 2×2 y útil cuando el tamaño muestral es muy reducido. Y, en el caso de los datos cuantitativos, el test no paramétrico más idóneo a aplicar es el test de U Mann-Whitney (Wilcoxon).



Capítulo 3.- Resultados

Capítulo 3.- Resultados

Todos los resultados derivados de este estudio, han sido compartidos con las instituciones sanitarias nicaragüenses para unir esfuerzos que permitan mejorar la calidad de vida de la población infantil de comunidades insulares. Además, este trabajo y los que de él resulten, abre las puertas para futuras investigaciones que integren estudios completos de índole molecular para conseguir entender la dinámica de transmisión de las parasitosis detectadas, así como, las peculiaridades en cada una de las regiones insulares del país.

En este capítulo tercero se procede a reflejar todos los resultados obtenidos durante la realización de la presente Tesis Doctoral. Como se ha comentado en la **Tabla 3**, se ha trabajado con un total de 918 muestras fecales (439 niños y 479 niñas) procedentes de las cinco islas estudiadas. Aunque el tamaño de la población haya resultado reducido en algunas de las islas estudiadas, los porcentajes calculados se reportan como prevalencias para mantener la coherencia con estudios epidemiológicos similares. Además, se acompañará dicho valor de prevalencia con el número absoluto de casos obtenidos. Todo esto implica que, en estos casos, las estimaciones observadas deberán interpretarse con precaución.

3.1.- En el conjunto de las islas

En primer lugar, se procede a plasmar los resultados microscópico generales, en términos del espectro de parasitación y de las prevalencias de parasitación, de todo el estudio realizado sobre parasitación intestinal en población infantil de las distintas islas nicaragüenses que conforman este estudio.

Tal y como se observa en la **Tabla 6**, el espectro parasitario general está conformado por 15 especies, de las cuales 9 corresponden a protistas (siendo 4 de ellos Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP) y 5 Comensales (C)), 2 a esporas y tan solo 4 a helmintos. Además, se encontró que el 68,8% (632/918) de la población era positiva para al menos una especie parásita. Cabe destacar también, la diferencia entre el alto porcentaje de parasitación por protistas 61,4% (564/918) frente al relativamente reducido porcentaje 21,8% (200/918) correspondiente a helmintos con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,0001$).

Al hacer una revisión más detallada entre los porcentajes de parasitación por grupos, se encontró que, dentro de los protistas P/PP, la más elevada corresponde a infecciones

por *Blastocystis* sp. (36,5%; 335/918), seguido de *Giardia duodenalis* (21,9%; 201/918). En cuanto a los protistas C, el mayor porcentaje lo alcanza *Entamoeba coli* (23,3%; 214/918) seguido de *Endolimax nana* (18,8%; 173/918).

La presencia de dos especies de Myxosporideos (*Henneguya* spp. y *Myxobolus* spp.), a pesar de su escasa importancia en salud pública por tratarse de parásitos en tránsito, ya se comentará detalladamente en la isla donde apareció la parasitación.

En este estudio, del total de población positiva, la infección por especies P/PP alcanzó un 48,1% (442/918) mientras que la infección por especies C alcanzó un 36,9% (339/918).

En cuanto a helmintos se refiere, los geohelmintos alcanzaron las prevalencias más elevadas, siendo que *Trichuris trichiura* (19,1%; 175/918) y *Ascaris lumbricoides* (11,2%; 103/918). Las demás especies de helmintos presentaron porcentajes menores a 2%.

En las **Figuras 29** y **Figuras 30** se observa algunas de las especies de protistas y de las especies de helmintos detectadas en el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

Tabla 6. Espectro parasitario y prevalencias globales del estudio microscópico (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; ^*Ancylostoma duodenale*/ *Necator americanus*, %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).

N= 918	n	%	IC95%
Protistas	564	61,4	58,3 - 64,6
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	442	48,1	44,9 - 51,4
<i>Blastocystis</i> sp.	335	36,5	33,4 - 39,7
Complejo <i>Entamoeba</i> *	34	3,7	2,6 - 5,1
<i>Dientamoeba fragilis</i>	4	0,4	0,1 - 1,0
<i>Giardia duodenalis</i>	201	21,9	19,3 - 24,7
Comensales	339	36,9	33,9 - 40,1
<i>Chilomastix mesnili</i>	16	1,7	1,0 - 2,8
<i>Endolimax nana</i>	173	18,8	16,4 - 21,5
<i>Entamoeba coli</i>	214	23,3	20,7 - 26,1
<i>Entamoeba hartmanni</i>	65	7,1	5,6 - 8,9
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	14	1,5	0,9 - 2,5
Esporas	16	1,7	1,0 - 2,8
<i>Henneguya</i> spp.	7	0,8	0,3 - 1,5
<i>Myxobolus</i> spp.	11	1,2	0,6 - 2,1
Helmintos	200	21,8	19,2 - 24,6
Ancilostómidos^	11	1,2	0,6 - 2,1
<i>Ascaris lumbricoides</i>	103	11,2	9,3 - 13,4
<i>Hymenolepis nana</i>	3	0,3	0,1 - 0,9
<i>Trichuris trichiura</i>	175	19,1	16,6 - 21,7
Total +	632	68,8	65,8 - 71,8

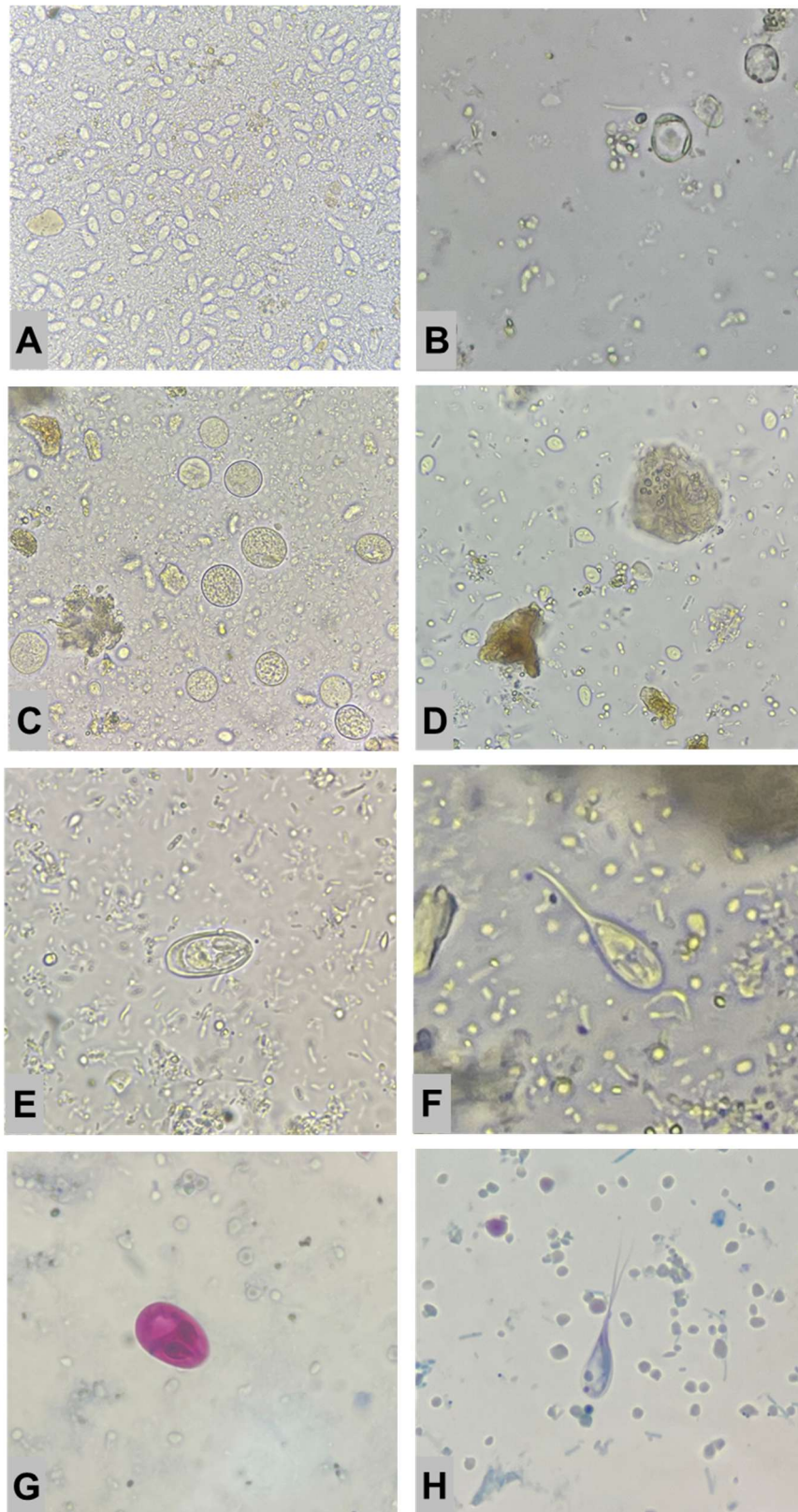


Figura 29: Microfotografías de algunos protistas identificados en la presente Tesis Doctoral **(A)** quistes de *Giardia duodenalis* (13 μ m); **(B)** *Blastocystis* sp. (15 μ m); **(C)** quistes de *Entamoeba coli* (22 μ m); **(D)** quiste de *Chilomastix mesnili* (9 μ m); **(E)** espora de *Myxobolus* spp. (15 μ m); **(F)** espora de *Henneguya* spp. (39 μ m).; **(G)** espora de *Myxobolus* spp. teñida con Ziehl Neelsen modificado; **(H)** espora de *Henneguya* spp. teñida con Ziehl Neelsen modificado. Fuente: Jacklyn Comas.

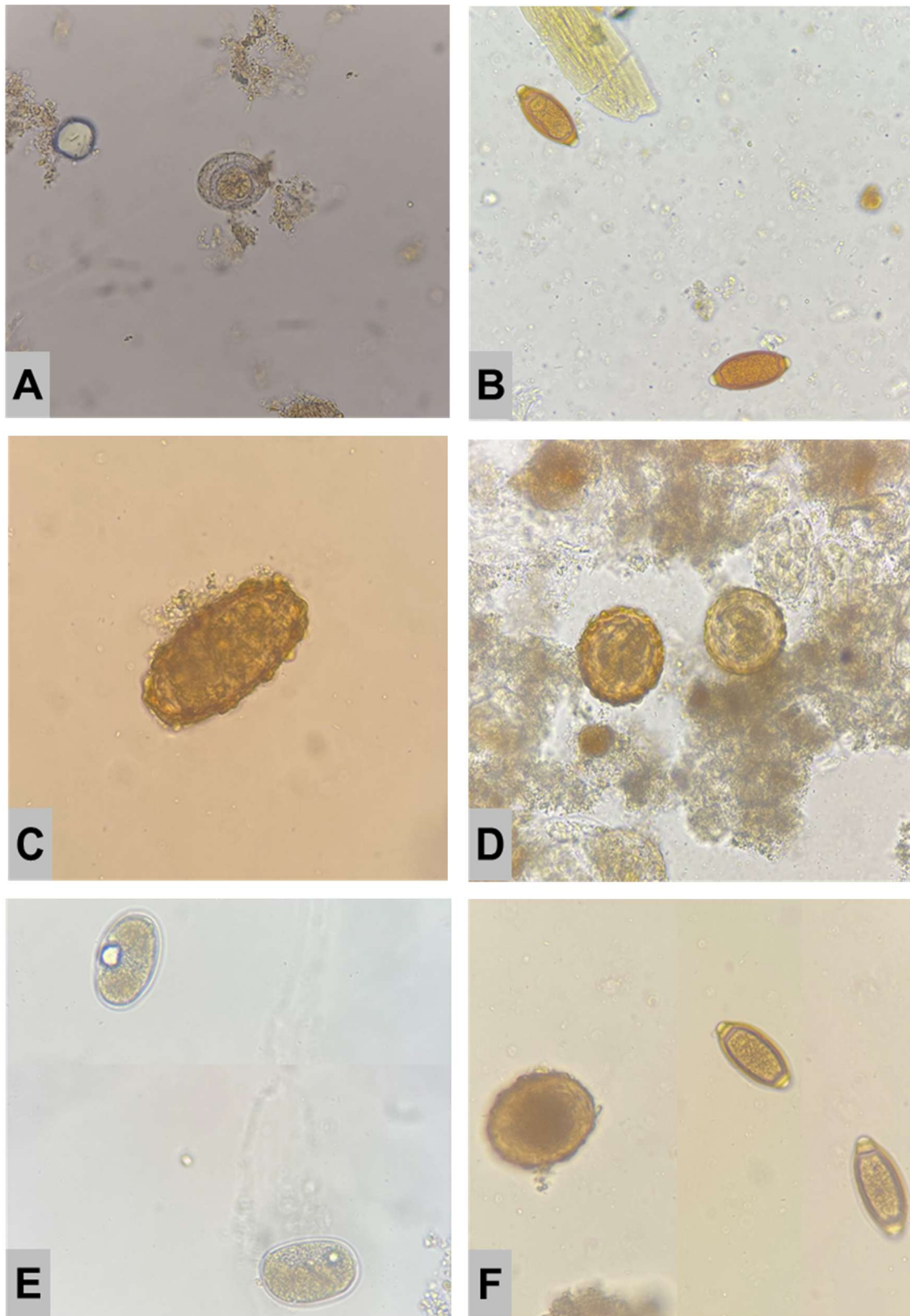


Figura 30: Microfotografías de los helmintos identificados en la presente Tesis Doctoral. **(A)** huevo de *Hymenolepis nana* (50x30); **(B)** huevos de *Trichuris trichiura* (50x20 μm); **(C)** huevo de *Ascaris lumbricoides* infértil (89x70 μm); **(D)** huevos de *Ascaris lumbricoides* (63x40 μm); **(E)** huevos de Ancilostómidos (65x39 μm); **(F)** huevo de *Ascaris lumbricoides* y *Trichuris trichiura*. Fuente: Jacklyn Comas.

A continuación, en este capítulo se procederá a plasmar los resultados que se obtuvieron en cada una de las islas estudiadas. Los resultados se estructurarán en dos apartados: el primero contendrá todos los resultados de diagnóstico a nivel microscópico, obtenidos en el laboratorio de la facultad de las diferentes islas estudiadas; y un segundo apartado que abordará todo el trabajo molecular realizado con las muestras de la isla de Corinto en el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) en Madrid.

3.2.- En las diferentes islas

Los resultados obtenidos con el diagnóstico a nivel microscópico de las diferentes islas se plasmarán siguiendo un orden basado en la división política del país, iniciando por los departamentos y continuando con las Regiones Autónomas.

Se abordará, en principio, el espectro parasitario y las prevalencias de parasitación totales de cada isla, así como los resultados por sexo y edad. Posteriormente, se analizará los casos de monoparasitismo y multiparasitismo teniendo en cuenta el sexo y la edad como variables comparativas.

3.2.1.- Isla de Corinto (Departamento de Chinandega)

En el departamento de Chinandega, la población estudiada fue de 88 menores. En total, se encontró un espectro parasitario de 10 especies: 8 correspondientes a protistas y 2 correspondientes a helmintos.

A) Espectro parasitario y prevalencias de parasitación

Tal y como se plasma en la **Tabla 7**, el 51,1% (45/88) de la población estudiada es positiva al menos para 1 especie parásita del espectro detectado. Se evidencia una marcada dominancia de infecciones causadas por protistas 46,6% (41/88) frente a las infecciones por helmintos 15,9% (14/88), con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$).

Revisando de manera detallada el espectro parasitario concerniente a protistas, *Blastocystis* sp. fue la especie más prevalente 21,6% (19/88), seguida de especies comensales. Con respecto a los helmintos, se observa discrepancia entre las dos especies detectadas, puesto que *T. trichiura* alcanza una prevalencia de 14,8% (13/88) frente a 2,3% (2/88) de *A. lumbricoides*.

Al revisar los porcentajes en cada uno de los barrios de Corinto, los protistas resultan más prevalentes que los helmintos con diferencias estadísticamente significativas en Barrio Nuevo y El Chorizo ($p=0,024$ y $p=0,020$, respectivamente).

Tabla 7. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla Corinto (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).

N=88	n	%	IC95%
Protistas	41	46,6	36,4 - 57,0
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	24	27,2	18,8 - 37,3
<i>Blastocystis</i> sp.	19	21,6	13,9 - 31,1
Complejo <i>Entamoeba</i> *	4	4,5	1,5 - 10,6
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1	1,1	0,1 - 5,5
<i>Giardia duodenalis</i>	10	11,4	5,9 - 19,3
Comensales	27	30,7	21,7 - 40,9
<i>Chilomastix mesnili</i>	1	1,1	0,1 - 5,5
<i>Endolimax nana</i>	18	20,5	13 - 29,8
<i>Entamoeba coli</i>	16	18,2	11,2 - 27,3
<i>Entamoeba hartmanni</i>	2	2,3	0,4 - 7,3
Helmintos	14	15,9	9,4 - 24,7
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2	2,3	0,4 - 7,3
<i>Trichuris trichiura</i>	13	14,8	8,5 - 23,4
Total +	45	51,1	40,7 - 61,5

Como se comentará posteriormente en el apartado **3.4.6**, al aplicar el estudio de identificación molecular el espectro total detectado en la isla de Corinto, se incrementó en dos especies de protistas.

A.1) Por sexo

Al comparar la población por sexo, no se encuentra diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las especies del espectro detectado. La parasitación total alcanzó el 52,5% (24/46) para el sexo femenino y el 50% (21/42) para el sexo masculino. Revisando de forma más detallada, las prevalencias totales correspondientes a protistas en el sexo femenino se corresponden con el 50% (23/46) y las presentadas en el sexo

masculino con 42,9% (18/42). En el caso de los helmintos, el sexo masculino presentó un porcentaje de 19% (8/42) y para el sexo femenino fue de 13% (6/46) (**Tabla 8**).

Tabla 8. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla de Corinto por sexo (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N=88	♀=46			♂=42			
	n	%	IC95%	n	%	IC95%	p-valor
Protistas	23	50	35,8 - 64,2	18	42,9	28,6 - 58,1	0,647
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	16	34,8	22,1 - 49,3	10	23,8	12,8 - 38,4	0,371
<i>Blastocystis</i> sp.	12	26,1	14,9 - 40,1	7	16,7	7,6 - 30,2	0,416
Complejo <i>Entamoeba</i> *	3	6,5	1,7 - 16,7	1	2,4	0,1 - 11,2	0,675
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1	2,2	0,1 - 10,3	-	-	-	-
<i>Giardia duodenalis</i>	6	13,0	5,5 - 25,2	4	9,5	3,1 - 21,4	0,854
Comensales	15	32,6	20,3 - 47,1	12	28,6	16,5 - 43,5	0,858
<i>Chilomastix mesnili</i>	-	-	-	1	2,4	0,1 - 11,2	-
<i>Endolimax nana</i>	9	19,6	9,9 - 32,9	9	21,4	10,9 - 35,7	0,961
<i>Entamoeba coli</i>	9	19,6	9,9 - 32,9	7	16,7	7,6 - 30,2	0,939
<i>Entamoeba hartmanni</i>	1	2,2	0,1 - 10,3	1	2,4	0,1 - 11,2	0,515
Helmintos	6	13,0	5,5 - 25,2	8	19,0	9,3 - 32,9	0,633
<i>Ascaris lumbricoides</i>	-	-	-	2	4,8	0,8 - 14,9	-
<i>Trichuris trichiura</i>	6	13,0	5,5 - 25,2	7	16,7	7,6 - 30,2	0,859
Total +	24	52,2	37,8 - 66,3	21	50	35,1 - 64,9	0,999

A.2) Por edad

A pesar del reducido tamaño muestral, al realizar el comparativo de los porcentajes por grupos de edades, tal y como se observa en la **Tabla 9**, se evidencia diferencias estadísticamente significativas ($p=0,003$), siendo el grupo de 12-14 años los más propensos al parasitismo total. Igualmente, este grupo de edad es el más prevalente en parasitación por protistas, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,002$). De igual manera, las especies del complejo *Entamoeba* y *Blastocystis* sp. son más frecuentes en este mismo grupo de edad con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,027$ y $p=0,001$ respectivamente). Al revisar las prevalencias en cada uno de los barrios de Corinto, la infección resultó mayoritaria en el grupo de 12-14 años de edad,

con diferencias estadísticamente significativas en Barrio Nuevo y El Chozizo ($p=0,037$ y $p=0,046$, respectivamente).

Tabla 9. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla Corinto por edad (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N=88	1-5 años=40			6-11 años=39			12-14 años=9			
	n	%	IC95%	n	%	IC95%	n	%	IC95%	p-valor
Protistas	15	37,5	23,6 - 53,1	17	43,6	28,8 - 59,3	9	100	71,7 - 100	0,002
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	10	25	13,5 - 40,1	9	23,1	11,9 - 38,1	7	17,9	8,2 - 32,3	0,003
<i>Blastocystis</i> sp.	5	12,5	4,7 - 25,6	8	20,5	10 - 35,3	6	66,7	33,2 - 90,7	0,001
<i>Complejo Entamoeba*</i>	1	2,5	0,1 - 11,7	1	2,6	0,1 - 12	2	22,2	3,9 - 56,2	0,027
<i>Dientamoeba fragilis</i>	-	-	-	1	2,6	0,1 - 12	-	-	-	-
<i>Giardia duodenalis</i>	7	17,5	7,9 - 31,6	2	5,1	0,9 - 15,9	1	11,1	0,6 - 43,9	0,223
Comensales	9	22,5	11,7 - 37,3	14	35,9	22,1 - 51,7	4	10,3	3,3 - 22,9	0,278
<i>Chilomastix mesnili</i>	-	-	-	1	2,6	0,1 - 12	-	-	-	-
<i>Endolimax nana</i>	5	12,5	4,7 - 25,6	11	28,2	15,8 - 43,3	2	22,2	3,9 - 56,2	0,221
<i>Entamoeba coli</i>	5	12,5	4,7 - 25,6	7	17,9	8,2 - 32,3	4	44,4	16,1 - 75,9	0,08
<i>Entamoeba hartmanni</i>	-	-	-	1	2,6	0,1 - 12	1	11,1	0,6 - 43,9	0,817
Helminths	4	10	3,3 - 22,4	8	20,5	10 - 35,3	2	22,2	3,9 - 56,2	0,381
<i>Ascaris lumbricoides</i>	-	-	-	1	2,6	0,1 - 12	1	11,1	0,6 - 43,9	0,817
<i>Trichuris trichiura</i>	3	7,5	1,9 - 19,1	5	12,8	4,9 - 26,2	1	11,1	0,6 - 43,9	0,734
Total +	16	40	25,8 - 55,6	23	58,9	43,2 - 73,5	9	100	71,7 - 100	0,003

B) Monoparasitismo y multiparasitismo

Al comparar entre casos totales de monoparasitismo (30,7%; 27/88) y multiparasitismo (23,9%; 21/88), no se observa diferencias estadísticamente significativas.

Dentro del multiparasitismo, la parasitación por 2 especies es la más frecuente con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,006$). En los casos de multiparasitismo se observa parasitación hasta por 6 especies en un mismo individuo, tal y como se observa en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Monoparasitismo y multiparasitismo de la isla Corinto (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).

N=88	n	%	IC 95%
Monoparasitismo	27	30,7	21,7 - 40,9
Multiparasitismo	21	23,9	15,8 - 33,6
2 especies	10	11,4	5,9 - 19,3
3 especies	7	7,9	3,5 - 15,1
4 especies	3	3,4	0,9 - 8,9
6 especies	1	1,1	0,1 - 5,5

B.1) Por sexo

Como se observa en la **Tabla 11**, no se encuentra diferencias estadísticamente significativas, ni en el monoparasitismo ni en el multiparasitismo entre ambos sexos.

Tabla 11. Monoparasitismo y multiparasitismo por sexo en la isla Corinto (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N=88	Monoparasitismo=27			Multiparasitismo=21			
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	p-valor
Femenino	13	48,1	29,9 - 66,7	13	61,9	40,2 - 80,5	0,781
Masculino	14	51,9	33,3 - 70	8	38,1	19,5 - 59,8	0,131
p-valor	0,999			0,352			

B.2) Por edad

Cuando se compara el monoparasitismo por grupos de edades, aparece diferencias estadísticamente significativas ($p=0,021$), resultando el grupo de 6-11 años de edad los más parasitados, tal y como se observa en la **Tabla 12**. En el multiparasitismo, no se detecta diferencias entre los grupos de edad.

Tabla 12. Monoparasitismo y multiparasitismo por edad en la isla Corinto (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico).

N=88	Monoparasitismo=27			Multiparasitismo=21			
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	p-valor
1-5 Años	10	37	20,6 - 56,2	6	28,6	12,5 - 50,2	0,290
6-11 Años	14	51,9	33,3 – 70	9	42,9	23,3 - 64,3	0,238
12-14 Años	3	11,1	2,9 - 27,3	6	28,6	12,5 - 50,2	0,345
p-valor	0,021			0,627			

3.2.2.- Isla de Ometepe (Departamento de Rivas)

La población total estudiada de la isla es de 514 menores, en los que se detectó un amplio espectro parasitario de 14 especies: 9 especies de protistas, 3 correspondientes a helmintos y 2 especies de parásito en tránsito correspondientes a esporas de Myxozoa. Para cada una de las 4 comunidades que componen la isla (Mancarrón, Mancarroncita, San Fernando y La Venada) y que fueron objeto de este estudio, se detectó al menos 6 especies de protistas y 1 de helmintos.

A) Espectro parasitario y prevalencias de parasitación

Tal y como se observa en la **Tabla 13**, se encontró que el 57,6% (296/514) de la población estudiada era positiva para al menos una especie de las pertenecientes al espectro detectado. Además, se encontró un elevado porcentaje de parasitación por protistas de 54,1%; (278/514) y un porcentaje de helmintos de 1,6%; (8/514), con diferencias estadísticamente significativas ($p<0,0001$). En todas las comunidades pertenecientes a esta isla, la prevalencia de protistas supera a la de los helmintos.

Al hacer una revisión más detallada entre los porcentajes de protistas, se encontró que las especies P/PP más prevalentes se corresponden a *Blastocystis* sp. (26,7%; 137/514) seguido de *G. duodenalis* (18,5%; 95/514). Comentar, de forma puntual y únicamente en la isla de Ometepe, en concreto en las comunidades de Balgüe, Mérida y La Paloma la detección de esporas de *Myxobolus* spp. (2,1%; 11/514) y *Henneguya* spp. (1,4%; 7/514). Como se comentará posteriormente, estas especies de Myxozoos son propias de peces de agua dulce, tal y como el salmón y la trucha, sin mayor relevancia en salud pública.

En cuanto a helmintos se refiere, *T. trichiura* y *A. lumbricoides* alcanzaron un reducido porcentaje de parasitación, en ambos casos (0,7%; 4/514), y finalizando con *Hymenolepis nana*, cuyo porcentaje resultó 0,2% (1/514). (véase **Tabla 13**).

Tabla 13. Espectro parasitario y prevalencias totales de la isla de Ometepe (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).

N= 514	n	%	IC95%
Protistas	278	54,1	48,8 - 58,4
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	204	39,7	35,5 - 43,9
<i>Blastocystis</i> sp.	137	26,7	22,9 - 30,6
Complejo <i>Entamoeba</i> *	11	2,1	1,1 - 3,7
<i>Dientamoeba fragilis</i>	2	0,3	0,1 - 1,3
<i>Giardia duodenalis</i>	95	18,5	15,3 - 22,0
Comensales	168	32,7	28,7 - 36,8
<i>Chilomastix mesnili</i>	4	0,7	0,2 - 1,8
<i>Endolimax nana</i>	60	11,7	9,1 - 14,7
<i>Entamoeba coli</i>	114	22,2	18,7 - 25,9
<i>Entamoeba hartmanni</i>	37	7,2	5,2 - 9,7
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	4	0,7	0,2 - 1,8
Esporas	16	3,1	1,9 - 4,9
<i>Henneguya</i> spp.	7	1,4	0,6 - 2,7
<i>Myxobolus</i> spp.	11	2,1	1,1 - 3,7
Helmintos	8	1,6	0,7 - 2,9
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4	0,7	0,2 - 1,8
<i>Hymenolepis nana</i>	1	0,2	0,0 - 0,9
<i>Trichuris trichiura</i>	4	0,7	0,2 - 1,8
Total +	296	57,6	53,2 - 61,8

A.1) Por sexo

Realizado el análisis de la población de la isla según sexo, tal y como se aprecia en la **Tabla 14**, se puede observar que no se detecta ninguna diferencia estadísticamente significativa entre ambos sexos. Este resultado se repite en todas las comunidades que conforman la isla de Ometepe.

Sin embargo, en la mayoría de los casos los porcentajes en el sexo femenino resultan similares a los del sexo masculino. Así, la parasitación total de las niñas alcanzó una prevalencia de 57,7% (162/281) y en los niños la prevalencia fue de 57,5% (134/233). Además, en el caso puntual de protistas, las niñas presentaron una prevalencia del 55,5% (156/281), frente a los niños con 57,8% (123/233). Sin embargo, en cuanto a helmintos, los porcentajes más elevados aparecieron en los niños con un 2,1% (5/233) frente a las niñas con 1,1% (3/281). En cuanto a las esporas, comentar que se detectaron de forma mayoritaria en el sexo masculino (4,7%; 11/233).

A.2) Por edad

Al realizar el comparativo de los porcentajes por grupos de edades, tal y como se ve en la **Tabla 15**, se evidencia diferencias estadísticamente significativas. El grupo de 12–14 años es el más propenso al parasitismo total ($p=0,0002$). Asimismo, comentar que, en la comunidad de La Paloma, el grupo de 12-14 años resulta más parasitado con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,039$). Este grupo de edad, de 12-14 años, resulta más parasitado por especies de protistas ($p=0,0009$) con respecto al grupo de 1-5 años de edad. En las especies comensales, los más susceptibles a *E. nana* ($p<0,00001$) y a *E. coli* ($p<0,00001$) son los menores de 15 años y 12-14 años de edad, respectivamente. A partir de los 11 años de edad, no se detecta parasitación ni por *A. lumbricoides* ni por *T. trichiura*.

Tabla 14. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla de Ometepe por sexo (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico).

N= 514	♀=281			♂=233			p-valor
	n	%	IC95%	n	%	IC95%	
Protistas	156	55,5	49,7 - 61,3	123	57,8	46,4 - 59,2	0,597
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	113	40,2	34,6 - 46,0	91	39,1	32,9 - 45,4	0,072
<i>Blastocystis</i> sp.	79	28,1	23,1 - 33,6	58	24,9	19,7 - 30,8	0,470
Complejo <i>Entamoeba</i> *	8	2,8	1,3 - 5,3	2	0,9	0,1 - 2,8	0,362
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1	0,4	0,0 - 1,7	1	0,4	0,0 - 2,1	0,562
<i>Giardia duodenalis</i>	51	18,1	13,9 - 22,9	44	18,9	14,2 - 24,2	0,920
Comensales	93	33,1	27,8 - 38,8	77	33	27,2 - 39,3	0,934
<i>Chilomastix mesnili</i>	1	0,4	0,0 - 1,7	3	1,3	0,3 - 3,5	0,488
<i>Endolimax nana</i>	37	13,2	9,6 - 17,5	23	9,9	6,5 - 14,2	0,309
<i>Entamoeba coli</i>	62	22,1	17,5 - 27,2	52	22,3	17,3 - 28	0,969
<i>Entamoeba hartmanni</i>	22	7,8	5,1 - 11,4	15	6,4	3,8 - 10,2	0,662
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	2	0,7	0,1 - 2,3	2	0,9	0,1 - 2,8	0,752
Esporas	5	1,8	0,7 - 3,9	11	4,7	2,5 - 8,1	0,097
<i>Henneguya</i> spp.	3	1,1	0,3 - 2,9	4	1,7	0,5 - 4,1	0,802
<i>Myxobolus</i> spp.	4	1,4	0,1 - 3,4	7	3,0	1,3 - 5,9	0,354
Helmintos	3	1,1	0,3 - 2,9	5	2,1	0,5 - 4,1	0,531
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1	0,4	0,0 - 1,7	1	0,4	0,0 - 2,1	0,488
<i>Hymenolepis nana</i>	1	0,4	0,0 - 1,7	-	-	-	-
<i>Trichuris trichiura</i>	1	0,4	0,0 - 1,7	3	1,3	0,3 - 3,5	0,488
Total +	162	57,7	51,8 - 63,3	134	57,5	51,1 - 63,8	0,954

Tabla 15. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla de Ometepe por edad (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N= 514	1-5 años=255			6-11 años=157			12-14 años=78			15 años=24			p-valor
	n	%	IC95%	n	%	IC95%	n	%	IC95%	n	%	IC95%	
Protistas	120	47,1	40,9 - 53,2	86	54,8	46,9 - 62,4	56	71,8	61,1 - 80,9	16	66,7	46,4 - 83,2	0,0009
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	94	36,9	31,1 - 42,9	68	43,3	35,7 - 51,2	31	39,7	29,4 - 50,9	12	50	30,6 - 69,4	0,429
<i>Blastocystis</i> sp.	59	23,1	18,3 - 28,6	43	27,4	20,9 - 34,8	25	32,1	22,4 - 42,9	10	41,7	23,5 - 61,8	0,133
Complejo <i>Entamoeba</i> *	5	1,9	0,7 - 4,3	4	2,5	0,8 - 6,0	1	1,3	0,1 - 6,2	-	-	-	0,804
<i>Dientamoeba fragilis</i>	-	-	-	1	0,6	0,0 - 3,1	1	1,3	0,1 - 6,2	-	-	-	0,957
<i>Giardia duodenalis</i>	48	18,8	14,4 - 23,9	34	21,7	15,7 - 28,6	11	14,1	7,6 - 23,2	2	8,30	1,4 - 24,9	0,295
Comensales	57	22,4	17,6 - 27,8	58	36,9	29,7 - 44,7	44	56,4	45,3 - 67,1	11	45,8	26,9 - 65,7	0,00001
<i>Chilomastix mesnili</i>	3	1,2	0,3 - 3,2	1	0,6	0,0 - 3,1	-	-	-	-	-	-	0,980
<i>Endolimax nana</i>	13	5,1	2,9 - 8,3	20	12,7	8,2 - 18,7	19	24,4	15,8 - 34,8	6	25	10,8 - 44,9	0,00001
<i>Entamoeba coli</i>	32	12,5	8,9 - 17,1	41	26,1	19,7 - 33,4	32	41	30,5 - 52,2	8	33,3	16,8 - 53,6	0,00001
<i>Entamoeba hartmanni</i>	16	6,3	3,8 - 9,8	7	4,5	1,9 - 8,6	13	16,7	9,6 - 26,2	1	4,2	0,2 - 18,9	0,004
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	3	1,2	0,3 - 3,2	1	0,6	0,0 - 3,1	-	-	-	-	-	-	0,980
Esporas	3	1,2	0,3 - 3,2	11	7,0	3,7 - 11,9	1	1,3	0,1 - 6,2	1	4,2	0,2 - 18,9	0,007
<i>Henneguya</i> spp.	-	-	-	7	4,5	1,9 - 8,6	-	-	-	-	-	-	-
<i>Myxobolus</i> spp.	3	1,2	0,3 - 3,2	6	3,8	1,6 - 7,8	1	1,3	0,1 - 6,2	1	4,2	0,2 - 18,9	0,262
Helmintos	4	1,6	0,5 - 3,7	2	1,3	0,2 - 4,1	-	-	-	1	4,2	0,2 - 18,9	0,574
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2	0,8	0,1 - 2,6	1	0,6	0,0 - 3,1	-	-	-	-	-	-	0,670
<i>Hymenolepis nana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	4,2	0,2 - 18,9	-
<i>Trichuris trichiura</i>	2	0,8	0,1 - 2,6	1	0,6	0,0 - 3,1	-	-	-	-	-	-	0,670
Total +	124	48,6	42,5 - 54,8	98	62,4	54,7 - 69,7	57	73,1	62,4 - 82,0	17	70,8	50,6 - 86,3	0,0002

B) Monoparasitismo y multiparasitismo

En la isla de Ometepe se ha considerado la presencia simultánea de cualquier especie parásita en el recuento de multiparasitismo. Esto implica que los resultados que se expresan a continuación, reflejan el multiparasitismo encontrado por especies de protistas, esporas y helmintos. Al comparar entre casos totales de monoparasitismo (31,5%) y multiparasitismo (26,1%), se observa que no existe diferencia estadísticamente significativa entre ellos ($p=0,062$), por tanto, los menores de la isla pueden estar parasitados por una o más de una especie a la vez. Sin embargo, en la comunidad de Mérida, el monoparasitismo es la forma mayoritaria de infección con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,010$). En la isla de Ometepe, el multiparasitismo por 2 especies parásitas es el mayoritario con diferencias estadísticamente significativas ($p<0,0001$). Cabe mencionar que, se alcanzó un multiparasitismo máximo de 6 especies en el mismo individuo, tal y como se ve en la

Tabla 16.

Tabla 16. Monoparasitismo y multiparasitismo de la isla de Ometepe (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).

N=514	n	%	IC 95%
Monoparasitismo	162	31,5	27,6 - 35,6
Multiparasitismo	134	26,1	22,4 – 30
2 especies	89	17,3	14,2 - 20,8
3 especies	33	6,4	4,5 - 8,8
4 especies	9	1,8	0,9 - 3,2
5 especies	2	0,4	0,1 - 1,3
6 especies	1	0,2	0 - 0,9

B.1) Por sexo

El monoparasitismo es igual de prevalente en ambos sexos. Sin embargo, el multiparasitismo es más prevalente en el sexo femenino, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,012$), como también ocurre en la comunidad de Mérida ($p=0,0003$). Sin embargo, solo en la comunidad de Balgüe, el monoparasitismo es más prevalente en el sexo femenino con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,039$). En el sexo masculino, se detecta mayor frecuencia de monoparasitismo entre los infectados de forma estadísticamente significativa ($p<0,0001$) como se ve en la

Tabla 17.

Tabla 17. Monoparasitismo y multiparasitismo por sexo en la isla de Ometepe (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

	Monoparasitismo=162			Multiparasitismo=134			
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	p-valor
Femenino	81	50	42,3 - 57,7	81	60,4	51,9 - 68,5	0,911
Masculino	81	50	42,3 - 57,7	53	39,6	31,5 - 48	0,0001
p-valor	0,931			0,012			

B.2) Por edad

Tanto el monoparasitismo como el multiparasitismo son más prevalentes en el grupo de edad de 1-5 años, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$), como también ocurre en la comunidad de Mérida. Sin embargo, en la comunidad de La Paloma, el grupo de edad más elevada (15 años), son los que presentan menor prevalencia tanto de monoparasitismo como de multiparasitismo, con diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,0001$ y $p = 0,007$, respectivamente). Además, sólo en el grupo de edad de 1-5 años, se detecta mayor frecuencia de monoparasitismo que de multiparasitismo entre los infectados, con diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,001$) como se ve en la **Tabla 18**.

Tabla 18. Monoparasitismo y multiparasitismo por edad en la isla Ometepe (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N=514	Monoparasitismo=162			Multiparasitismo=134			
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	p-valor
1 - 5 Años	75	46,3	38,7 - 54	49	36,6	28,7 - 44,9	0,001
6 - 11 Años	54	33,3	26,4 - 40,9	44	32,8	25,3 - 41,1	0,198
12 - 14 Años	25	15,4	10,5 - 21,6	32	23,9	17,2 - 31,6	0,262
15 Años	8	4,9	2,3 - 9,2	9	6,7	3,3 - 11,9	0,999
p-valor	0,0001			0,0001			

3.2.3.- Archipiélago de Solentiname (Departamento de Rio San Juan)

La población total estudiada en este archipiélago ha sido de 88 menores, residentes en 4 comunidades, en las que, en alguna de ellas, no se llega siquiera a una docena de escolares estudiados. El espectro parasitario detectado fue de 7: 6 correspondientes a protistas y una especie de helminto. Posteriormente, para cada comunidad, se detectó un espectro de al menos 5 especies de protistas, y, en algún caso una de helminto.

A) Espectro parasitario y prevalencias de parasitación

Tal y como se observa en la **Tabla 19**, el 81,8% (72/88) de la población estudiada es positiva para al menos 1 especie parásita del espectro detectado, evidenciándose un predominio de protistas (81,8%; 72/88) frente al correspondiente de helmintos (1,1%; 1/88), con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$). El único helminto detectado fue *T. trichiura*, el cual se detectó en la comunidad de La Venada.

Al revisar detalladamente el espectro correspondiente a protistas, se ha observado que las prevalencias más elevadas de especies P/PP correspondían, *Blastocystis* sp. (70,5%; 62/88) y *G. duodenalis* (30,7%; 27/88).

Tabla 19. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación del Archipiélago de Solentiname (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).

N= 88	n	%	IC95%
Protistas	72	81,8	72,7 - 88,9
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	68	72,3	67,7 - 85,1
<i>Blastocystis</i> sp.	62	70,5	60,3 - 79,3
Complejo <i>Entamoeba</i> *	6	6,8	2,8 - 13,6
<i>Giardia duodenalis</i>	27	30,7	21,7 - 40,9
Comensales	40	45,5	35,3 - 55,9
<i>Endolimax nana</i>	33	37,5	27,9 - 47,9
<i>Entamoeba coli</i>	19	21,6	13,9 - 31,1
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	1	1,1	0,1 - 5,5
Helmintos	1	1,1	0,1 - 5,5
<i>Trichuris trichiura</i>	1	1,1	0,1 - 5,5
Total +	72	81,8	72,7 - 88,9

A.1) Por sexo

Al comparar la población por sexo, no se encuentra diferencias estadísticamente significativas ni en el total del Archipiélago, ni en ninguna de las comunidades estudiadas. Llama la atención que los porcentajes de protistas sean similares en ambos sexos (80%; 36/45 y 83,7%; 36/43). Como se evidencia en la **Tabla 20**. Sin embargo, los porcentajes del sexo masculino en todos los casos superaron a los del sexo femenino.

En el caso de los helmintos, sólo se diagnosticaron en el sexo femenino, alcanzando una prevalencia de 2,2% (1/45).

Tabla 20. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación del Archipiélago de Solentiname por sexo (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N= 88	♀=45			♂=43			
	n	%	IC95%	n	%	IC95%	p-valor
Protistas	36	80	66,5 - 89,8	36	83,7	70,4 - 92,6	0,860
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	33	73,3	59,1 - 84,7	35	81,4	67,7 - 90,9	0,517
<i>Blastocystis</i> sp.	31	68,9	53,3 - 81,1	31	72,1	57,4 - 83,9	0,923
Complejo <i>Entamoeba</i> *	1	2,2	0,1 - 10,5	5	11,6	4,4 - 23,9	0,184
<i>Giardia duodenalis</i>	10	22,2	11,9 - 36,1	17	39,5	25,8 - 54,6	0,126
Comensales	15	33,3	20,8 - 47,9	25	58,1	43,1 - 72,1	0,051
<i>Endolimax nana</i>	14	31,1	18,9 - 45,7	19	44,18	29,9 - 59,2	0,297
<i>Entamoeba coli</i>	6	13,3	5,6 - 25,7	13	30,2	17,9 - 45,1	0,095
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	-	-	-	1	2,3	0,1 - 10,9	-
Helmintos	1	2,2	0,1 - 10,5	-	-	-	-
<i>Trichuris trichiura</i>	1	2,2	0,1 - 10,5	-	-	-	-
Total +	36	80	66,7 - 89,8	36	83,7	70,4 - 92,6	0,860

A.2) Por edad

Al realizar el comparativo de las prevalencias por grupos de edades como se ve en la **Tabla 21**, no se evidencia diferencias estadísticamente significativas ni en el total del Archipiélago ni en las comunidades estudiadas, siendo el grupo de 12–14 años es el más propenso al parasitismo total. Igualmente, este grupo de edad es el más prevalente

en parasitación por especies de protistas. En cambio, en el grupo de las especies de helmintos, sólo se presentó un caso de *T. trichiura* en el grupo de 6-11 años.

Tabla 21. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación del Archipiélago de Solentiname por edad (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N= 88	1-5 años=32			6-11 años=44			12-14 años=12			p-valor
	n	%	IC95%	n	%	IC95%	n	%	IC95%	
Protistas	28	87,5	72,6 - 95,9	32	72,7	58,2 - 84,3	12	100	77,9 - 100	0,054
Patógenos/Potencia lmente Patógenos (P/PP)	27	84,4	68,7 - 94	30	68,2	53,4 - 80,6	11	91,7	65,3 - 99,6	0,11
<i>Blastocystis</i> sp.	23	71,9	54,6 - 85,3	29	65,9	51,1 - 78,7	10	83,3	54,9 - 97,1	0,490
Complejo <i>Entamoeba</i> *	2	6,3	1,1 - 19,2	3	6,8	1,7 - 17,4	1	8,3	0,4 - 34,8	0,970
<i>Giardia duodenalis</i>	9	28,1	14,7 - 45,4	14	31,8	19,4 - 46,6	4	33,3	11,6 - 62,3	0,92
Comensales	14	43,8	27,5 - 61,1	22	50	35,5 - 64,5	4	33,3	11,6 - 62,3	0,572
<i>Endolimax nana</i>	10	31,3	17,1 - 48,7	20	45,5	31,3 - 60,2	3	25	6,8 - 54,1	0,283
<i>Entamoeba coli</i>	6	18,8	7,9 - 34,9	12	27,3	15,7 - 41,8	1	8,3	0,4 - 34,8	0,326
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	-	-	-	1	2,3	0,1 - 10,7	-	-	-	-
Helmintos	-	-	-	1	2,3	0,1 - 10,7	-	-	-	-
<i>Trichuris trichiura</i>	-	-	-	1	2,3	0,1 - 10,7	-	-	-	-
Total +	28	87,5	72,6 - 95,9	32	72,7	58,2 - 84,3	12	100	77,9 - 100	0,054

B) Monoparasitismo y multiparasitismo

Al comparar los casos totales de monoparasitismo (29,2%; 21/88) y multiparasitismo (70,8%; 51/88), se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$). El multiparasitismo mayoritario está causado por dos especies parásitas. Tan solo en dos individuos se alcanzó un multiparasitismo máximo, de 5 especies parásitas, tal y como se observa en la **Tabla 22**.

El multiparasitismo fue más prevalente que el monoparasitismo solo en la comunidad de Mancarrón y en La Venada, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$, en ambos casos).

Tabla 22. Monoparasitismo y multiparasitismo del Archipiélago de Solentiname (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).

N=51	n	%	IC 95%
Monoparasitismo	21	29,2	19,6 - 40,4
Multiparasitismo	51	70,8	59,6 - 80,4
2 especies	35	68,6	55 - 80,2
3 especies	8	15,7	7,6 - 27,6
4 especies	6	11,8	4,9 - 22,9
5 especies	2	3,9	0,7 - 12,4

B.1) Por sexo

Al comparar monoparasitismo y el multiparasitismo por sexo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, ni en el total del Archipiélago ni en las comunidades estudiadas. Sin embargo, mientras que en el sexo femenino se detectó mayor frecuencia de monoparasitismo, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,033$), en el sexo masculino se detectó mayor frecuencia de multiparasitismo con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,0007$), tal y como se observa en la **Tabla 23**.

Tabla 23. Monoparasitismo y multiparasitismo por sexo del Archipiélago de Solentiname (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N=88	Monoparasitismo=21			Multiparasitismo=51			
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	p-valor
Femenino	13	61,9	40,2 - 80,5	23	45,1	31,9 - 58,8	0,033
Masculino	8	38,0	19,5 - 59,8	28	54,9	41,2 - 68,1	0,0007
p-valor	0,352			0,506			

B.2) Por edad

Todos los grupos de edad son igual de susceptibles al monoparasitismo. En cambio, en el multiparasitismo se encuentra diferencias estadísticamente significativas ($P=0,0003$), siendo el grupo de 6-11 años el más susceptible. Asimismo, en este mismo grupo de edad, aparece mayor frecuencia de multiparasitismo con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,0001$), tal como se observa en la **Tabla 24**.

El multiparasitismo fue más prevalente que el monoparasitismo en el grupo de 6-11 años de edad solo en la comunidad de San Fernando y en La Venada, con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,032$ y $p=0,031$, respectivamente).

Tabla 24. Monoparasitismo y multiparasitismo por edad del Archipiélago de Solentiname (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N=88	Monoparasitismo=21			Multiparasitismo=51			p-valor
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	
1 - 5 Años	10	47,6	27,3 - 68,6	18	35,3	23,2 - 49,1	0,061
6 - 11 Años	5	23,8	9,3 - 45,2	27	52,9	39,3 - 66,3	0,0001
12 - 14 Años	6	28,6	12,5 - 50,2	6	11,8	4,9 - 22,9	0,683
p-valor	0,337			0,0003			

3.2.4.- Isla de Rama Cay (Región Autónoma de la Costa Caribe Sur)

En Cayo Rama, popularmente conocido como Rama Cay, se estudió un total de 119 menores, todos procedentes de la única comunidad existente en el cayo, en los cuales se encontró un espectro parasitario de 11 especies: 9 correspondían a protistas y 2 a helmintos.

A) Espectro parasitario y prevalencias de parasitación

Tal y como se observa en la **Tabla 25**, el porcentaje total de infectados corresponde al 81,5% (97/119), siendo superior el porcentaje total de helmintos (73,9%; 88/119) al de protistas (64,7%; 77/119), aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Revisando de manera más detallada el espectro parasitario concerniente a protistas, *Blastocystis* sp. fue la especie más prevalente (40,3%; 63/119), seguida de especies comensales. De igual forma, el espectro concerniente a protistas P/PP fue superior al espectro concerniente a protistas C, con 59,9% (63/119) y 42,9% (51/119), respectivamente.

Con respecto a los helmintos, se detectaron 2 especies, teniendo la prevalencia más elevada *A. lumbricoides* (64,7%; 77/119) frente a *T. trichiura* (58,8%; 70/119).

Tabla 25. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación Rama Cay (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).

N=119	n	%	IC95%
Protistas	77	64,7	55,8 - 72,9
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	63	59,9	43,9 - 61,8
<i>Blastocystis</i> sp.	48	40,3	31,8 - 49,3
Complejo <i>Entamoeba</i> *	7	5,9	2,6 - 11,3
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1	0,8	0,0 - 4,1
<i>Giardia duodenalis</i>	27	22,7	15,8 - 30,9
Comensales	51	42,9	34,2 - 51,9
<i>Chilomastix mesnili</i>	9	7,7	3,8 - 13,4
<i>Endolimax nana</i>	29	24,4	17,3 - 32,7
<i>Entamoeba coli</i>	30	25,2	18,0 - 33,6
<i>Entamoeba hartmanni</i>	13	10,9	6,2 - 17,5
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	1	0,8	0,0 - 4,1
Helmintos	88	73,9	65,5 - 81,2
<i>Ascaris lumbricoides</i>	77	64,7	55,8 - 72,9
<i>Trichuris trichiura</i>	70	58,8	49,8 - 67,4
Total +	97	81,5	73,8 - 87,7

A.1) Por sexo

Al comparar el espectro parasitario por sexo, aparecen diferencias estadísticamente significativas. En el sexo masculino es más frecuente la infección por especies P/PP ($p=0,023$) que, en el sexo femenino, apareciendo diferencias en el caso de *G. duodenalis* ($p=0,006$). Tal y como se observa en la **Tabla 26**, en el sexo masculino los porcentajes suelen ser superiores a los presentados en el sexo femenino. Llama la atención que las prevalencias de parasitación totales en ambos sexos sean similares (80,4%; 45/56 y 82,5%; 52/63).

Tabla 26. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de Rama Cay por sexo (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N=119	♀=56			♂=63			
	n	%	IC95%	n	%	IC95%	p-valor
Protistas	33	58,9	45,8 - 71,2	44	69,8	57,7 - 80,2	0,294
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	23	41,1	28,8 - 54,3	40	63,5	51,1 - 74,7	0.023
<i>Blastocystis</i> sp.	18	32,1	20,9 - 45,2	30	47,6	35,5 - 59,9	0,125
Complejo <i>Entamoeba</i> *	2	3,6	0,6 - 11,3	5	7,9	2,9 - 16,7	0,535
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1	1,8	0,1 - 8,5	-	-	-	-
<i>Giardia duodenalis</i>	6	10,7	4,5 - 20,9	21	33,3	22,6 - 45,6	0,006
Comensales	25	44,6	32,1 - 57,8	26	41,3	29,6 - 53,7	0.852
<i>Chilomastix mesnili</i>	3	5,4	1,4 - 13,9	6	9,5	3,9 - 18,8	0,609
<i>Endolimax nana</i>	10	17,9	9,4 - 29,5	19	30,2	19,8 - 42,3	0,178
<i>Entamoeba coli</i>	15	26,8	16,5 - 39,5	15	23,8	14,5 - 35,5	0,871
<i>Entamoeba hartmanni</i>	6	10,7	4,5 - 20,9	7	11,1	4,9 - 20,7	0,821
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	1	1,78	0,08 - 8,49	-	-	-	-
Helmintos	41	73,2	60,5 - 83,6	47	74,6	62,8 - 84,2	0,970
<i>Ascaris lumbricoides</i>	37	66,1	52,9 - 77,5	40	63,5	51,1 - 74,7	0,919
<i>Trichuris trichiura</i>	33	58,9	45,8 - 71,2	37	58,7	46,3 - 70,4	0,869
Total +	45	80,4	68,4 - 89,2	52	82,5	71,7 - 90,5	0,944

A.2) Por edad

Al realizar el comparativo de las prevalencias por grupos de edades, se encuentra que la población está dividida en tan solo dos grupos, de 1–5 años y 6–11 años de edad, tal como se ve en la **Tabla 27**. En el grupo de 6–11 años de edad es donde aparece mayor frecuencia de *E. nana*, *G. duodenalis* y *E. complejo* con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,006$, $p=0,023$ y $p<0,0001$). De igual forma, el grupo de 6-11 años son los que presentan mayoritariamente parasitación por especies protistas C con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,044$).

Tabla 27. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de Rama Cay por edades (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; P-valor = valor estadístico).

N=119	1–5 años=105			6–11 años=14			
	n	%	IC95%	n	%	IC95%	p-valor
Protistas	66	62,9	53,3 - 71,7	11	78,6	52,1 - 94,2	0,390
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	54	51,4	41,9 - 60,9	9	64,3	37,6 - 85,6	0,535
<i>Blastocystis</i> sp.	43	40,9	31,9 - 50,5	5	35,7	14,4 - 62,4	0,932
Complejo <i>Entamoeba</i> *	2	1,9	0,3 - 6,2	5	35,7	14,44 - 62,4	0,0001
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1	0,9	0 - 4,6	-	-	-	-
<i>Giardia duodenalis</i>	20	19	12,4 - 27,4	7	50	25,1 - 74,9	0,023
Comensales	41	39	30,1 - 48,6	10	71,4	44,6 - 90,2	0,044
<i>Chilomastix mesnili</i>	7	6,7	2,9 - 12,7	2	14,3	2,5 - 39,7	0,635
<i>Endolimax nana</i>	21	20	13,2 - 28,5	8	57,1	31,2 - 80,4	0,006
<i>Entamoeba coli</i>	22	20,9	13,9 - 29,5	5	35,7	14,4 - 62,4	0,368
<i>Entamoeba hartmanni</i>	12	11,4	6,3 - 18,6	1	7,1	0,4 - 30,5	0,978
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	1	0,9	0 - 4,6	-	-	-	-
Helminths	76	72,4	63,3 - 80,3	12	85,7	60,3 - 97,5	0,457
<i>Ascaris lumbricoides</i>	66	62,9	53,3 - 71,7	11	78,6	52,1 - 94,2	0,390
<i>Trichuris trichiura</i>	60	57,1	47,6 - 66,4	10	71,4	44,6 - 90,2	0,464
Total +	84	80	71,5 - 86,8	13	92,9	69,5 - 99,6	0,425

B) Monoparasitismo y multiparasitismo

Al comparar entre casos totales de monoparasitismo (8,4%; 10/119) y multiparasitismo (73,1%; 87/119), se observa diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$). Dentro del multiparasitismo, la parasitación por 2 especies es la más frecuente con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$). En los casos de multiparasitismo se observa parasitación hasta por 7 especies en un mismo individuo, tal y como se observa en la **Tabla 28**.

Tabla 28. Monoparasitismo y multiparasitismo de Rama Cay (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).

N=119	n	%	IC 95%
Monoparasitismo	10	8,4	4,3 - 14,5
Multiparasitismo	87	73,1	64,6 - 80,5
2 especies	27	31	21,9 - 41,3
3 especies	21	24,1	16 - 33,9
4 especies	20	22,9	15,1 - 32,7
5 especies	10	11,5	5,9 - 19,5
6 especies	8	9,2	4,4 - 16,7
7 especies	1	1,1	0,1 - 5,5

B.1) Por sexo

Tal y como se observa en la **Tabla 29**, no se encuentra diferencias estadísticamente significativas ni en el monoparasitismo ni en el multiparasitismo entre ambos sexos. Sin embargo, en el sexo femenino, el monoparasitismo es más frecuente con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$), mientras que los menores del sexo masculino presentan multiparasitismo de forma más frecuente, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$).

Tabla 29. Monoparasitismo y multiparasitismo por sexo en Rama cay (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

	Monoparasitismo=10			Multiparasitismo=87			
N=119	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	p-valor
Femenino	7	70	38 - 91,7	38	43,7	33,6 - 54,2	<0,0001
Masculino	3	30	8,3 - 61,9	49	56,3	45,8 - 66,5	<0,0001
p-valor	0,332			0,178			

B.2) Por edad

Como se observa en la **Tabla 30**, mientras que en el monoparasitismo solo se presenta en el grupo de edad de 1-5 años, el multiparasitismo es más prevalente en dicho grupo de edad con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$). Además, en el grupo

de 1-5 años de edad el monoparasitismo (100%) es más frecuente que el multiparasitismo, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$).

Tabla 30. Monoparasitismo y multiparasitismo por edad en Rama Cay (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N =119	Monoparasitismo n=10			Multiparasitismo n=87			p-valor
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	
1 - 5 Años	10	100	74,1 - 100	74	85,1	76,4 - 91,4	<0,0001
6 - 11 Años	-	-	-	13	14,9	8,6 - 23,6	-
p-valor	-			<0,0001			

3.2.5.- Isla de El Bluff (Región Autónoma de la Costa Caribe Sur)

En la isla de El Bluff, se estudió un total de 109 menores, todos pertenecientes a la única comunidad, con edades comprendidas entre 6 y 14 años. El espectro parasitario detectado fue de 12 especies: 8 de estas correspondientes a protistas y 4 a helmintos.

A) Espectro parasitario y prevalencias de parasitación

Como se observa en la **Tabla 31**, el 95,4% (104/109) de la población estudiada resulta positiva para al menos 1 especie parásita. La parasitación por protistas, con prevalencia de 88,1% (96/109), resulta similar a la de helmintos (81,7%; 89/109).

Al revisar más detalladamente, se evidencia que el porcentaje más alto corresponde a la especie *T. trichiura* (78,8%; 87/109), seguido de *Blastocystis* sp. (63,3%; 69/109) y *G. duodenalis* (38,5%; 42/109). En el caso puntual de los helmintos, cabe señalar que en el espectro se detecta por primera vez Ancilostómidos. Además, la prevalencia de *A. lumbricoides* solo alcanza el 18,3% (20/109).

A.1) Por sexo

Como se observa en la **Tabla 32**, al comparar la población por sexo, no se encuentra diferencias estadísticamente significativas. Los porcentajes de protistas son similares en ambos sexos (87,8%; 43/49 y 88,3%; 53/60), aunque el sexo femenino suele tener prevalencias más elevadas que el sexo masculino.

En cuanto a helmintos se refiere, los mayores porcentajes se encuentran en el sexo masculino (86,7%; 52/60) frente a los del sexo femenino (75,5%; 37/49). La prevalencia más elevada corresponde a la especie *T. trichiura* (85%; 51/60).

Tabla 31. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla de El Bluff (*= *E. histolytica*/*E. dispar*/*E. moshkovskii*; ^ *Ancylostoma duodenale*/*Necator americanus*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).

N= 109	n	%	IC95%
Protistas	96	88,1	80,9 - 93,2
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	83	71,1	67,5 - 83,4
<i>Blastocystis</i> sp.	69	63,3	53,9 - 71,9
Complejo <i>Entamoeba</i> *	6	5,5	2,3 - 11,1
<i>Giardia duodenalis</i>	42	38,5	29,8 - 47,9
Comensales	53	48,6	39,4 - 57,9
<i>Chilomastix mesnili</i>	2	1,8	0,3 - 5,9
<i>Endolimax nana</i>	33	30,3	22,2 - 39,4
<i>Entamoeba coli</i>	35	32,1	23,9 - 41,3
<i>Entamoeba hartmanni</i>	13	11,9	6,8 - 19,0
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	8	7,3	3,5 - 13,5
Helmintos	89	81,7	73,6 - 88,1
Ancilostómidos^	11	10,1	5,4 - 16,9
<i>Ascaris lumbricoides</i>	20	18,3	11,9 - 26,5
<i>Hymenolepis nana</i>	2	1,8	0,3 - 5,9
<i>Trichuris trichiura</i>	87	78,8	71,5 - 86,6
Total +	104	95,4	90,1 - 98,3

Tabla 32. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla de El Bluff por sexo (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; ^ *Ancylostoma duodenale*/*Necator americanus*, %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N= 109	♀=49			♂=60			
	n	%	IC95%	n	%	IC95%	p-valor
Protistas	43	87,8	76,3 - 94,9	53	88,3	78,3 - 94,8	0,838
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	35	71,4	57,7 - 82,7	48	80	68,5 - 88,7	0,413
<i>Blastocystis</i> sp.	32	65,3	51,3 - 77,6	37	61,7	48,9 - 73,3	0,847
Complejo <i>Entamoeba</i> *	3	6,1	1,6 - 15,8	3	5	1,3 - 13	0,867
<i>Giardia duodenalis</i>	20	40,8	27,8 - 54,9	22	36,7	25,2 - 49,4	0,806
Comensales	25	51	37,2 - 64,8	28	46,7	34,4 - 59,3	0,795
<i>Chilomastix mesnili</i>	1	2	0,1 - 9,7	1	1,7	0,1 - 7,9	0,566
<i>Endolimax nana</i>	20	40,8	27,8 - 54,9	13	21,7	12,6 - 33,4	0,05
<i>Entamoeba coli</i>	16	32,7	20,7 - 46,6	19	31,7	20,9 - 44,2	0,923
<i>Entamoeba hartmanni</i>	8	16,3	7,9 - 28,7	5	8,3	3,1 - 17,5	0,325
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	4	8,2	2,6 - 18,5	4	6,7	2,2 - 15,3	0,943
Helminos	37	75,5	62,1 - 86	52	86,7	76,3 - 93,6	0,212
Ancilostómidos^	4	8,2	2,6 - 18,5	7	11,7	5,2 - 21,7	0,776
<i>Ascaris lumbricoides</i>	8	16,3	7,9 - 28,7	12	20	11,3 - 31,5	0,807
<i>Hymenolepis nana</i>	1	2	0,1 - 9,7	1	1,7	0,1 - 7,9	0,566
<i>Trichuris trichiura</i>	36	73,5	59,9 - 84,4	51	85	74,3 - 92,4	0,21
Total +	46	93,9	84,2 - 98,4	58	96,7	89,4 - 99,4	0,816

A.2) Por edad

La población está dividida en dos grupos de edad: 6–11 años y 12–14 años. Tal y como se observa en la **Tabla 33**, no existe diferencias estadísticamente significativas. No obstante, el grupo de 12-14 presenta prevalencias más elevadas en la mayoría de los casos que el grupo de 6-11 años.

Al revisar con más detalle, se encuentra que, en el grupo de 6-11 años el porcentaje más elevado corresponde a *T. trichiura* (80,6%; 75/93), seguido de *Blastocystis* sp. (59,1%; 55/93) y, finalmente, *E. coli* (33,3%; 31/93). Sin embargo, en el grupo de adolescentes los porcentajes más elevados aparecen solo en especies de protistas: *Blastocystis* sp. (87,5%; 14/16); *G. duodenalis* (43,8%; 7/16); y, finalmente, *E. nana* (37,5%; 6/16).

Tabla 33. Espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla de El Bluff por edades (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; ^ *Ancylostoma duodenale*/*Necator americanus*, %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N= 109	6–11 años=93			12–14 años=16			
	n	%	IC95%	n	%	IC95%	p-valor
Protistas	81	87,1	79,1 - 92,8	15	93,8	72,84 - 99,7	0,733
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	68	73,1	63,4 - 81,4	15	93,8	72,8 - 99,7	0,141
<i>Blastocystis</i> sp.	55	59,1	48,9 - 68,8	14	87,5	64,5 - 97,9	0,058
Complejo <i>Entamoeba</i> *	6	6,5	2,7 - 12,9	-	-	-	-
<i>Giardia duodenalis</i>	35	37,6	28,2 - 47,8	7	43,8	21,5 - 68,1	0,852
Comensales	47	50,5	40,4 - 60,1	6	37,5	16,8 - 62,4	0,488
<i>Chilomastix mesnili</i>	2	2,2	0,4 - 6,9	-	-	-	-
<i>Endolimax nana</i>	27	29	20,5 - 38,9	6	37,5	16,8 - 62,4	0,699
<i>Entamoeba coli</i>	31	33,3	24,3 - 43,4	4	25	8,5 - 49,9	0,711
<i>Entamoeba hartmanni</i>	12	12,9	7,2 - 20,9	1	6,3	0,3 - 27,2	0,733
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	7	7,52	3,35 - 14,32	1	6,25	0,31 - 27,16	0,735
Helmintos	76	81,7	72,9 - 88,6	13	81,3	56,9 – 95	0,76
Ancilostómidos^	9	9,7	4,8 - 17	2	12,5	2,2 - 35,5	0,917
<i>Ascaris lumbricoides</i>	15	16,1	9,7 - 24,7	5	31,3	12,5 - 56,3	0,275
<i>Hymenolepis nana</i>	2	2,2	0,4 - 6,9	-	-	-	-
<i>Trichuris trichiura</i>	75	80,6	71,7 - 87,7	12	75	50,1 - 91,5	0,855
Total +	88	94,6	88,5 – 98	16	100	82,9 – 100	0,762

B) Monoparasitismo y multiparasitismo

Al comparar entre casos totales de monoparasitismo (16,5%; 18/109) y multiparasitismo (78,9%; 86/109), se observa diferencias estadísticamente significativas ($p<0,0001$). Dentro del multiparasitismo, la parasitación por 3 especies es la más frecuente con diferencias estadísticamente significativas ($p<0,0001$). En los casos de multiparasitismo se observa parasitación hasta por 8 especies en un mismo individuo, tal y como se observa en la **Tabla 34**.

Tabla 34. Monoparasitismo y multiparasitismo de la isla de El Bluff (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).

N=109	n	%	IC 95%
Monoparasitismo	18	16,5	10,4 - 24,4
Multiparasitismo	86	78,9	70,5 - 85,8
2 especies	20	23,3	15,2 - 33
3 especies	24	27,9	19,2 - 38,1
4 especies	22	25,6	17,2 - 35,6
5 especies	13	15,1	8,67 - 23,9
6 especies	5	5,8	2,2 - 12,4
7 especies	1	1,2	0,1 - 5,6
8 especies	1	1,2	0,1 - 5,6

B.1) Por sexo

Tal y como se observa en la **Tabla 35**, no se encuentra diferencias estadísticamente significativas, ni en el monoparasitismo ni en el multiparasitismo entre ambos sexos. Sin embargo, tanto en el sexo femenino como en el sexo masculino, el multiparasitismo es más frecuente con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$), en ambos casos.

Tabla 35. Monoparasitismo y multiparasitismo por sexo en la isla de El Bluff (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N=109	Monoparasitismo=18			Multiparasitismo=86			
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	p-valor
Femenino	8	44,4	23,2 - 67,3	38	44,2	33,9 - 54,8	<0,0001
Masculino	10	55,6	32,7 - 76,8	48	55,8	45,2 - 66	<0,0001
p-valor	0,738			0,170			

B.2) Por edad

Tal y como se observa en la **Tabla 36**, tanto el monoparasitismo como el multiparasitismo muestran diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de edad considerados ($p = 0,0002$ y $p < 0,0001$, respectivamente). Además, el multiparasitismo aparece de forma más frecuente en ambos grupos de edad, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$ y $p = 0,001$, respectivamente).

Tabla 36. Monoparasitismo y multiparasitismo por edad en la isla de El Bluff (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

N= 109	Monoparasitismo =18			Multiparasitismo =86			
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	p-valor
6-11 Años	15	83,3	61 - 95,6	73	84,9	76,1 - 91,3	<0,0001
12-14 Años	3	16,7	4,4 - 38,9	13	15,1	8,7 - 23,9	0,001
p-valor	0,0002			<0,0001			

3.3.- Intensidad de parasitación por geohelminfos

Dentro de las 632 muestras de este estudio que resultaron positivas para alguna especie parásita, la frecuencia de muestras donde se detectó infección solo por geohelminfos alcanzó 200 casos (31%; 200/632). Las 3 especies detectadas mayoritariamente fueron: *T. trichiura* (28%; 175/632), la especie que más casos presentó con una intensidad promedio de 523 hgh, seguido de *A. lumbricoides* (16%; 103/632) con una intensidad promedio de 3.826 hgh, y, finalmente los ancilostómidos (1,7%; 11/632), presentando una intensidad promedio de 12 hgh (**Tabla 37**). Además, cabe recordar que estos ancilostómidos fueron detectados solamente en la isla de El Bluff, zona que corresponde a la región Caribe del país.

Tal y como se ha comentado anteriormente, dado que la parasitación por geohelminfos fue mayoritaria en la isla de El Bluff y en la isla de Rama Cay, el estudio estadístico a nivel de intensidad, para cada una de las especies detectadas, se centra principalmente entre estas dos islas del Caribe nicaragüense. Sin embargo, también se incluyó en el estudio estadístico la isla de Corinto, en el Pacífico nicaragüense, dado el elevado recuento de hgh encontrado.

Así, en el caso de *T. trichiura* al realizar comparación de hgh (intensidad) entre las islas de Rama Cay, el Bluff y Corinto, no apareció diferencia estadísticamente significativa. Esta situación podría explicarse debido a que el máximo recuento de hgh obtenido en la isla de Corinto (25.662 hgh) se debe exclusivamente a un caso, mientras que los valores para los demás casos son similares a los obtenidos en las islas de Rama Cay y El Bluff.

Tabla 37. Recuento de huevos por gramo de heces (hgh) por especie de geohelminintos detectados: promedio, rango y mediana.

	<i>T. trichiura</i> n=175	<i>A. lumbricoides</i> n=103	Ancilostómidos n=11
Promedio	523 hgh	3.826 hgh	12 hgh
Mínima	10 hgh	10 hgh	10 hgh
Máxima	25.662 hgh	23.860 hgh	30 hgh
Mediana	120 hgh	2.510 hgh	10 hgh

En cuanto a la especie *A. lumbricoides*, al comparar hgh entre la isla de Rama Cay y el Bluff, aparece diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,0001$), al igual que al comparar la isla de Rama Cay con la isla de Corinto ($p = 0,001$). Esto confirma que la intensidad mayoritaria se recontó en la isla de Rama Cay. Además, cabe comentar que no se detecta diferencias estadísticamente significativas en el recuento de huevos de *A. lumbricoides* entre El Bluff y la isla de Corinto.

3.3.1.- Clasificación de la clase de intensidad

Para realizar la clasificación de la intensidad de parasitación de geohelminintos en cada una de las islas estudiadas, siguiendo los criterios establecidos por la OMS (OMS, 2011), se realizó recuento de huevos para cada especie en cada una de las muestras positivas, obteniendo un valor promedio que se comparó con los valores de referencia de la OMS. Los resultados aparecen reflejados en la **Tabla 38**.

A nivel de promedio general, en el caso de *T. trichiura*, la intensidad dominante en la mayoría de Islas estudiadas es de tipo leve excepto en la isla de Corinto, donde se alcanza intensidad moderada en el 15% de los casos e incluso se asciende hasta la intensidad severa en el 8% de los casos.

A nivel de promedio general en el caso de *A. lumbricoides*, la intensidad dominante en la mayoría de las islas estudiadas es de tipo leve, excepto en la isla de Rama Cay donde se alcanza la intensidad de tipo moderado en el 31% de los casos.

Por último, a nivel de promedio general en el caso de ancilostómidos la intensidad obtenida en la isla de El Bluff es de tipo leve.

Tabla 38. Recuento de huevos por gramo de heces (hgh) de las especies de geohelminthos detectados (promedio, rango y mediana) en cada una de las islas estudiadas y clase de Intensidad de parasitación de geohelminthos según criterios de la OMS (^ *Ancylostoma duodenale*/*Necator americanus*).

	Ometepe		Solentiname	Corinto		Rama Cay		El Bluff		
	<i>T.</i> <i>trichiura</i>	<i>A.</i> <i>lumbricoides</i>	<i>T.</i> <i>trichiura</i>	<i>T.</i> <i>trichiura</i>	<i>A.</i> <i>lumbricoides</i>	<i>T.</i> <i>trichiura</i>	<i>A.</i> <i>lumbricoides</i>	<i>T.</i> <i>trichiura</i>	<i>A.</i> <i>lumbricoides</i>	Ancilostómidos^
Total	150	320	30	32.674	1.601	28.480	385.200	30.200	6.983	130
Promedio	38	80	30	2.513	801	407	5.002	347	349	12
Mínima	20	20	30	34	353	10	10	10	10	10
Máxima	80	300	30	25.662	1.248	4.760	23.860	4.070	3.093	30
Mediana	50	80	30	164	801	180	3.850	110	40	10
Clase de intensidad										
Leve	100%	100%	100%	77%	100%	91%	69%	90%	100%	100%
Moderada	-	-	-	15%	-	9%	31%	10%	-	-
Severa	-	-	-	8%	-	-	-	-	-	-

3.4.- Diagnóstico a nivel molecular en la isla de Corinto

Únicamente las 88 muestras procedentes de la isla de Corinto se encontraban fijadas de forma compatible con la aplicación de técnicas de diagnóstico molecular. En primer lugar y abarcando solo aquellas muestras diagnosticadas como positivas por microscopía óptica, se les realizó un estudio de genotipado (en el caso de las muestras positivas con *G. duodenalis*) y un estudio de subtipado, (con las muestras positivas de *Blastocystis* sp.), con la intención de conocer el posible potencial zoonótico y, por tanto, el origen de la infección.

En segundo lugar, durante la estancia en el ISCIII de Madrid, se completó el estudio de diagnóstico molecular, abarcando tanto las muestras positivas (ya analizadas inicialmente) como aquellas muestras consideradas como negativas por diagnóstico microscópico.

3.4.1.- Caracterización de *Giardia duodenalis*

De un total de 88 muestras procedentes de la isla de Corinto, se detectaron 10 muestras positivas para *G. duodenalis* por microscopía óptica y 10 muestras más mediante técnicas moleculares, lo que deja un porcentaje de esta especie en 22,7% (20/88). Así, se trabajó con un total de 20 muestras mediante qPCR (**Figura 31**), alcanzando en 11 de ellas un ciclo umbral adecuado ($Ct < 29$) para continuar con el estudio de genotipado, lo que significa el 55% (11/20) de las muestras. Este valor de Ct es fundamental en un qPCR ya que representa la cantidad de veces que se repite un ciclo para lograr la amplificación del ADN o ARN hasta cruzar la señal de fluorescencia generada por la reacción. Estos valores están inversamente relacionados con la cantidad de material genético. Es decir, que un Ct bajo indica mayor carga genética (genes de copia única) y, por tanto, requiere de menos ciclos hasta cruzar la señal fluorescente, mientras que un Ct elevado, indica poca carga genética (genes de copia múltiple) y, por tanto, requerirá más ciclos hasta alcanzar la señal fluorescente (Serrano-Cumplido *et al.*, 2021).

Aunque las 11 muestras fueron analizadas con los 3 marcadores genéticos (*gdh*; *tpi*; *bg*), solo con 5 muestras (45,5%; 5/11) se logró una amplificación exitosa por alguno de dichos marcadores.

Finalmente, se pudo asignar 2 muestras al ensamblaje A (18,2%; 2/11) y 3 con ensamblaje B (27,3%; 3/11), quedando 6 muestras sin asignación de ensamblaje (54,6%; 6/11). A nivel de sub- ensamblaje, el BIII con el 60% (3/5), fue el más frecuente, mientras que, para las otras dos muestras, se detectaron los sub- ensamblaje AII (20%;

1/5) y AII/III (20%; 1/5), respectivamente. No se presentaron infecciones mixtas ni variantes genéticas con presencia exclusiva en animales.

Caracterización de *G. duodenalis*

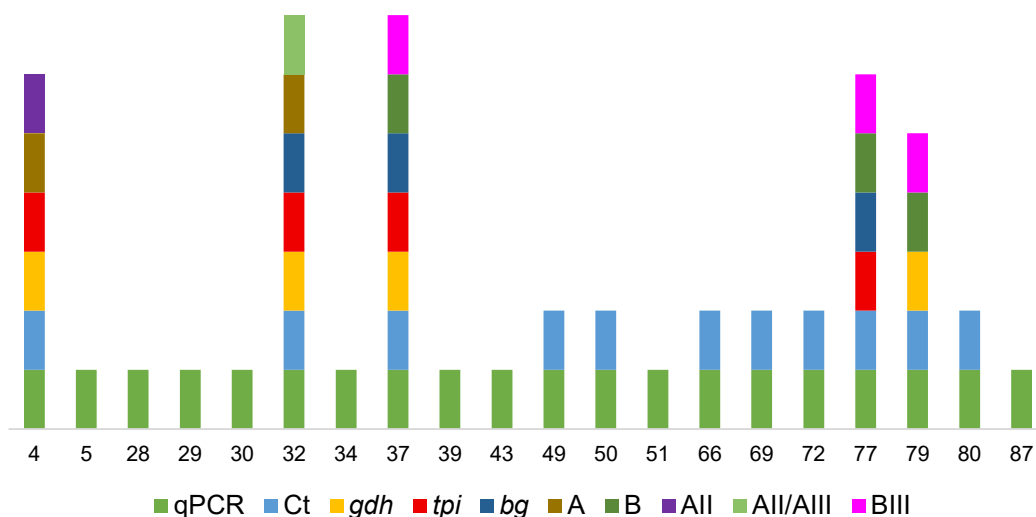


Figura 31: Muestras positivas de *G. duodenalis* analizadas a nivel molecular (identificación de muestras 4-87): resultados del análisis de qPCR; valor de Ct<29; marcadores genéticos; ensamblajes A y B; sub-ensamblajes AII/AIII y BIII.

En general en cuanto a los datos demográficos se refiere, el 45% (9/20) de los casos positivos para *G. duodenalis* pertenecen al sexo masculino y el 55% (11/20) al sexo femenino. De las 5 muestras que se lograron genotipar de manera exitosa, el 60% (3/5) pertenecen al sexo femenino, todas en el rango de edad entre 1 y 5 años.

3.4.2.- Caracterización de *Blastocystis* sp.

De un total de 88 muestras procedentes de la isla de Corinto, se detectaron 19 muestras positivas para *Blastocystis* sp. por microscopía óptica y 8 muestras más mediante técnicas moleculares lo que deja el porcentaje de estas especies en 30,7% (27/88). Así, se trabajó con un total de 27 muestras de las que se llegó a amplificar el 85,2% (23/27) y, mediante secuenciación Sanger, se logró una asignación de diferentes subtipos (ST). El ST1 resultó el más prevalente con el 60,9% (14/23), seguido del ST2 y ST3, con el 17,4% (4-23), en ambos casos y, de forma puntual, se detectó una única muestra con ST7 (4,3%; 1/23) **Figura 32.**

Caracterización de *Blastocystis* sp.

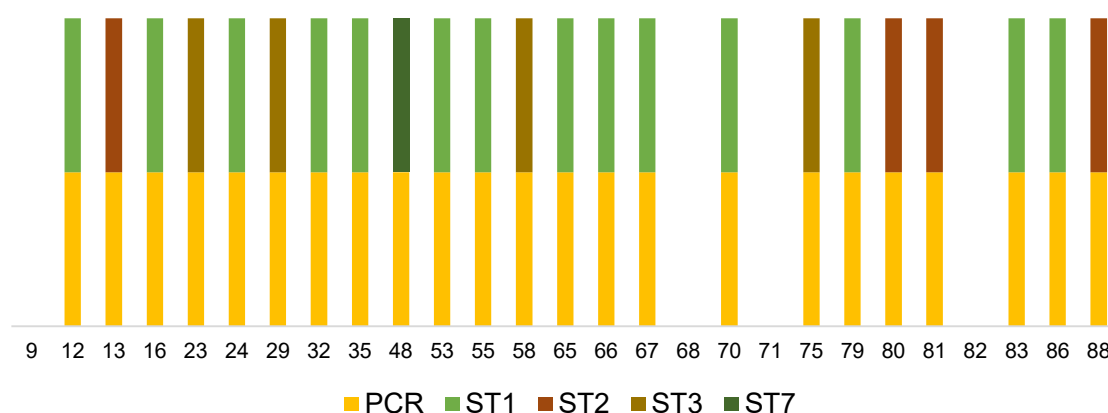


Figura 32: Muestras positivas de *Blastocystis* sp. analizadas a nivel molecular (identificación de muestras 9-88): amplificación por PCR (no amplificadas muestras 9, 68, 71 y 82); subtipos identificados.

En general, en cuanto a datos demográficos, el 37% (11/27) de los casos positivos para *Blastocystis* sp. pertenecen al sexo masculino y el 59,3% (16/27) al sexo femenino. De las muestras identificadas como ST1, el 64,3% (9/14) pertenecen al sexo femenino y el 35,7% (5/14) al sexo masculino. De las identificadas como ST2 el 75% (3/4) corresponden al sexo femenino y el 25% (1/4) al sexo masculino. De las identificadas como ST3 el 75% (3/4) corresponde al sexo masculino y el 25% (1/4) al sexo femenino. El único caso identificado como ST7 corresponde 100% (1/1) al sexo femenino. En el caso de ST1 las muestras identificadas van de 3 a 12 años de edad, en el caso de ST2, de 6 a 12 años de edad y en el caso de ST3 de 7 a 13 años de edad. El único caso de ST7 corresponde a una niña de 13 años de edad.

En cuanto a los alelos detectados en las muestras secuenciadas, el mayoritario fue el alelo 4 con un 60,9% (14/23); el 13% (3/23) fue el alelo 34; y, el 8,7% (2/23) fue el alelo 11+12. Respecto a la variabilidad intra-subtipo, en ST1 todas las muestras corresponden al alelo 4 con un 100% (14/14). En el ST2, el 50% (2/4) corresponden con el alelo 11+12 y el 25% (1/4) corresponde al alelo 12 (1/4) y al alelo 11+63 (1/4). En el ST3 el 75% (3/4) corresponde al alelo 34 y el 25% (1/4) al alelo 37. En el caso del ST7, no se pudo confirmar el alelo correspondiente (desconocido) (**Figura 33**).

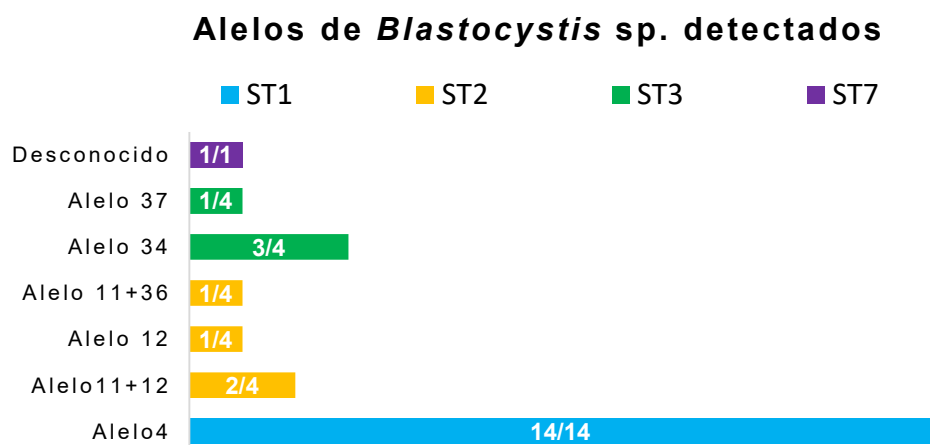


Figura 33: Alelos identificados en cada uno de los subtipos detectados en las muestras secuenciadas positivas para *Blastocystis* sp.

3.4.3.- Caracterización de *Cryptosporidium* spp.

En todas las muestras analizadas por microscopía óptica, tras realizadas tinciones específicas, no se detectó parasitación por coccidios. Sin embargo, en el estudio molecular mediante *ssu* rARN-PCR, 2 muestras resultaron positivas para *Cryptosporidium* spp. De esta forma, se amplió el espectro de la isla de Corinto resultando el 2,3% (2/88) de parasitación por coccidios.

Aunque estas muestras no fueron identificadas mediante protocolo de PCR del marcador molecular gp60 del parásito, el análisis de la secuenciación Sanger permitió identificar las muestras como *Cryptosporidium hominis*.

3.4.4.- Caracterización de otras especies

En un intento de completar la identificación molecular de las muestras consideradas como totalmente negativas por microscopía óptica (40/88), se realizó una búsqueda mediante ITS-PCR, para el caso de *Enterocytozoon bieneusi* y *Cystoisospora belli*, y mediante *ssu*-PCR para *Encephalitozoon* spp. Pese al intento, no se caracterizó ninguna muestra positiva para ninguna de estas especies.

3.4.5.- Diagnóstico diferencial del complejo *Entamoeba*

En este estudio, mediante microscopía óptica se identificaron 4 muestras (4,6%; 4/88) como complejo *Entamoeba*., ya que visualmente no se logra una diferenciación entre *E.*

histolytica, *E. dispar* y *E. moshkovskii*. Al realizar qPCR para el diagnóstico diferencial de las especies se obtuvo como resultado que las 4 (100%) correspondían a *E. dispar*.

3.4.6.- Actualización del espectro parasitario y prevalencias totales de la isla de Corinto

Una vez realizada la caracterización y diferenciación a nivel molecular de las 88 muestras procedentes de la isla de Corinto y, tal y como se ha comentado anteriormente, el espectro parasitario y las prevalencias quedaron notablemente incrementadas, tal y como se observa en la **Tabla 39**. La prevalencia total alcanzó el 71,6% (63/88) sobre el 51,1% (45/88) diagnosticado únicamente por técnicas microscópicas. Entre los protistas, dado el incremento de casos positivos de *G. duodenalis* (22,7%; 20/88) y de *Blastocystis* sp. (30,7%; 27/88), así como la detección de 2 casos infectados con *C. hominis* (2,3%), el porcentaje de parasitación asciende a 67% (59/88) frente al 46,6% (41/88) diagnosticado únicamente por técnicas microscópicas.

Además, comentar que la diferenciación molecular del complejo *Entamoeba* permitió la identificación de *Entamoeba dispar* en todos los casos (4,5%; 4/88).

Tabla 39. Actualización del espectro parasitario y prevalencias totales de parasitación de la isla Corinto con la aplicación del diagnóstico molecular (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%).

N= 88	n	%	IC95%
Protistas	59	67,0	56,7 – 76,3
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	45	51,1	40,7 - 61,5
<i>Blastocystis</i> sp.	27	30,7	21,7 - 40,9
<i>Cryptosporidium hominis</i>	2	2,3	0,4 - 7,3
<i>Entamoeba dispar</i>	4	4,5	1,5 - 10,6
<i>Dientamoeba fragilis</i>	1	1,1	0,1 – 5,5
<i>Giardia duodenalis</i>	20	22,7	14,9 – 32,3
Comensales	27	30,7	21,7 - 40,9
<i>Chilomastix mesnili</i>	1	1,1	0,1 – 5,5
<i>Endolimax nana</i>	18	20,5	13 - 29,8
<i>Entamoeba coli</i>	16	18,2	11,2 - 27,3
<i>Entamoeba hartmanni</i>	2	2,3	0,4 - 7,3
Helmintos	14	15,9	9,4 - 24,7
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2	2,3	0,4 - 7,3
<i>Trichuris trichiura</i>	13	14,8	8,5 - 23,4
Total +	63	71,6	61,5 – 80,3

3.5.- Variables relacionadas con la infección

En el siguiente apartado se plasmará de manera detallada posibles variables en la infección tanto de especies patógenas/potencialmente patógenas (P/PP) como de comensales (C). Así, en primer lugar, se estudiará los binomios de parásitos P/PP más prevalentes en cada una de las islas. A continuación, se abordará la relación de la infección de especies P/PP con distintas variables: a) consistencia de las heces; b) vías de transmisión; c) distribución geográfica.

3.5.1.- En relación con el binomio de especies patógenas/potencialmente patógenas

De un total de 632 muestras que resultaron positivas, el 69,9% (442/632) presentaban especies protistas patógenas y/o potencialmente patógenas (P/PP), entre las que se realizó el análisis de los binomios existentes. Se consideró tanto las especies de protistas P/PP más prevalentes como las especies de geohelminetos. Se encontró un total de 25 binomios posibles, destacando: *Blastocystis* sp. + *T. trichiura* (16,8%; 106/632); *G. duodenalis* + *Blastocystis* sp. (15,3%; 97/632); *T. trichiura* + *A. lumbricoides* (12,5%; 79/632); y, *G. duodenalis* + *T. trichiura* (10,3%; 65/632). Para las demás asociaciones encontradas los porcentajes fueron inferiores al 9% tal y como se observa en la **Tabla 40**.

Se ha usado tablas de contingencia con un análisis estadístico para identificar los binomios con diferencias significativas. Los resultados revelaron que sólo los binomios formados por algún geohelmineto con *G. duodenalis* y con *Blastocystis* sp., así como el binomio de ambos protistas, presentaron diferencias estadísticamente significativas (**Tabla 40**).

A continuación, se reflejan los resultados de binomios en cada una de las islas estudiadas.

Tabla 40. Binomio de especies patógenas y/o potencialmente patógenas detectadas en las muestras positivas; (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; ^ *Ancylostoma duodenale*/*Necator americanus*).

Binomio de especies P/PP	n	%	p-valor
N=632			
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Trichuris trichiura</i>	106	16,8	<0,0001
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Ascaris lumbricoides</i>	51	8,1	<0,0001
<i>Blastocystis</i> sp. + ancilostómidos^	9	1,4	0,005
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Hymenolepis nana</i>	2	0,3	0,426
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Giardia duodenalis</i>	11	11,7	0,230
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Blastocystis</i> sp.	18	2,8	0,075
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Trichuris trichiura</i>	9	1,4	0,563
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Ascaris lumbricoides</i>	7	1,1	0,618
Complejo <i>Entamoeba</i> * + ancilostómidos^	1	0,2	0,430
<i>Cryptosporidium hominis</i> + <i>Trichuris trichiura</i>	1	0,2	0,613
<i>Dientamoeba fragilis</i> + <i>Giardia duodenalis</i>	1	0,2	0,750
<i>Dientamoeba fragilis</i> + <i>Blastocystis</i> sp.	1	0,2	0,352
<i>Dientamoeba fragilis</i> + <i>Trichuris trichiura</i>	1	0,2	0,651
<i>Dientamoeba fragilis</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1	0,2	0,512
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Cryptosporidium hominis</i>	1	0,2	0,886
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Blastocystis</i> sp.	97	15,3	0,008
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Trichuris trichiura</i>	65	10,3	<0,0001
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	25	3,9	<0,0001
<i>Giardia duodenalis</i> + Ancilostómidos^	4	0,6	0,002
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Hymenolepis nana</i>	1	0,2	0,396
<i>Ascaris lumbricoides</i> + ancilostómidos^	5	0,8	0,061
<i>Ascaris lumbricoides</i> + <i>Hymenolepis nana</i>	1	0,2	0,605
<i>Trichuris trichiura</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	79	12,5	0,01
<i>Trichuris trichiura</i> + ancilostómidos^	11	1,7	0,054
<i>Trichuris trichiura</i> + <i>Hymenolepis nana</i>	2	0,3	0,433

3.5.1.1.- Isla de Corinto

En la isla de Corinto, dentro de las 63 muestras positivas a alguna especie parásita, se identificaron 13 binomios posibles. El más frecuente fue *Blastocystis* sp + *T. trichiura* alcanzando 11,1% (7/63) tal y como se observa en la **Tabla 41**.

Tabla 41. Binomio de especies patógenas y/o potencialmente patógenas detectadas en la isla de Corinto; (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*).

Binomio de especies P/PP Corinto	nº	%
N=63		
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Trichuris trichiura</i>	7	11,1
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1	1,6
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Giardia duodenalis</i>	1	1,6
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Blastocystis</i> sp.	2	3,2
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Trichuris trichiura</i>	1	1,6
<i>Cryptosporidium hominis</i> + <i>Trichuris trichiura</i>	1	1,6
<i>Dientamoeba fragilis</i> + <i>Giardia duodenalis</i>	1	1,6
<i>Dientamoeba fragilis</i> + <i>Blastocystis</i> sp.	1	1,6
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Cryptosporidium hominis</i>	1	1,6
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Blastocystis</i> sp.	6	9,5
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Trichuris trichiura</i>	5	7,9
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1	1,6
<i>Trichuris trichiura</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1	1,6

3.5.1.2.- Isla de Ometepe

En la isla de Ometepe, en 296 muestras positivas a alguna especie parásita se identificaron 7 binomios, destacando el de *G. duodenalis* + *Blastocystis* sp. con un porcentaje de 11,8% (35/296). Los demás binomios no llegan al 1% tal y como se observa en la **Tabla 42**.

Tabla 42. Binomio de especies patógenas y/o potencialmente patógenas detectadas en la isla de Ometepe; (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*).

Binomio de especies P/PP Ometepe	nº	%
N=296		
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Trichuris trichiura</i>	2	0,7
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Hymenolepis nana</i>	1	0,3
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Giardia duodenalis</i>	4	1,3
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Blastocystis</i> sp.	6	2
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Blastocystis</i> sp.	35	11,8
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Trichuris trichiura</i>	1	0,3
<i>Trichuris trichiura</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1	0,3

3.5.1.3.- Archipiélago de Solentiname

En el archipiélago de Solentiname, dentro de las 72 muestras positivas a alguna especie parásita, se identificaron solamente 4 binomios, siendo esta zona la que menos presenta. El más frecuente fue el de *G. duodenalis* + *Blastocystis* sp. con un porcentaje de 15,3% (11/72). En el caso de *Blastocystis* sp + *T. trichiura* sólo se alcanza el 1,4% (1/72) tal y como se observa en la **Tabla 43**.

Tabla 43. Binomio de especies patógenas y/o potencialmente patógenas detectadas en el Archipiélago de Solentiname; (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*).

Binomio de especies P/PP Solentiname	nº	%
N=72		
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Trichuris trichiura</i>	1	1,4
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Giardia duodenalis</i>	3	4,2
Complejo <i>Entamoeba</i> + <i>Blastocystis</i> sp.	3	4,2
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Blastocystis</i> sp.	11	15,3

3.5.1.4.- Isla de Rama Cay

En la isla de Rama Cay, dentro de las 97 muestras positivas a alguna especie parásita, se identificaron 12 binomios. El más frecuente engloba a dos especies de geohelminths: *T. trichiura* + *A. lumbricoides* alcanzando un 60,8% (59/97) tal y como se observa en la **Tabla 44**.

3.5.1.5.- Isla de El Bluff

En la isla de El Bluff, dentro de las 104 muestras positivas a alguna especie parásita, se identificó el mayor número de binomios de todas las islas estudiadas (18 binomios). El más frecuente corresponde a *Blastocystis* sp.+ *T. trichiura* (55,8%; 58/104), seguida de *G. duodenalis* + *T. trichiura* (37,5%; 39/104) tal y como se observa en la **Tabla 45**.

Tabla 44. Binomio de especies patógenas y/o potencialmente patógenas detectadas en la isla de Rama Cay; (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*).

Binomio de especies P/PP Rama Cay	nº	%
N=97		
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Trichuris trichiura</i>	38	39,2
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Ascaris lumbricoides</i>	37	38,1
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Giardia duodenalis</i>	3	3,1
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Blastocystis</i> sp.	4	4,1
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Trichuris trichiura</i>	4	4,1
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Ascaris lumbricoides</i>	6	6,2
<i>Dientamoeba fragilis</i> + <i>Trichuris trichiura</i>	1	1
<i>Dientamoeba fragilis</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1	1
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Blastocystis</i> sp.	15	15,5
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Trichuris trichiura</i>	20	20,6
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	20	20,6
<i>Trichuris trichiura</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	59	60,8

Tabla 45. Binomio de especies patógenas y/o potencialmente patógenas detectadas en la isla de El Bluff; (*= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; ^ *Ancylostoma duodenale*/*Necator americanus*).

Binomio de especies P/PP El Bluff	nº	%
N=104		
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Trichuris trichiura</i>	58	55,8
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Ascaris lumbricoides</i>	13	12,5
<i>Blastocystis</i> sp. + ancilostómidos^	9	8,7
<i>Blastocystis</i> sp. + <i>Hymenolepis nana</i>	1	0,9
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Blastocystis</i> sp.	3	2,9
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Trichuris trichiura</i>	4	3,8
Complejo <i>Entamoeba</i> * + <i>Ascaris lumbricoides</i>	1	0,9
Complejo <i>Entamoeba</i> * + ancilostómidos^	1	0,9
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Blastocystis</i> sp.	30	28,8
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Trichuris trichiura</i>	39	37,5
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	4	3,8
<i>Giardia duodenalis</i> + ancilostómidos^	4	3,8
<i>Giardia duodenalis</i> + <i>Hymenolepis nana</i>	1	0,9
<i>Ascaris lumbricoides</i> + ancilostómidos^	5	4,8
<i>Ascaris lumbricoides</i> + <i>Hymenolepis nana</i>	1	0,9
<i>Trichuris trichiura</i> + <i>Ascaris lumbricoides</i>	18	17,3
<i>Trichuris trichiura</i> + ancilostómidos^	11	10,6
<i>Trichuris trichiura</i> + <i>Hymenolepis nana</i>	2	1,9

3.5.2.- En relación con la consistencia del material fecal

En este apartado se ha contado con las muestras procedentes de tan solo tres islas en donde se conocía la consistencia de las heces. Así, el total de muestras utilizadas ha sido 281 procedentes de Rama Cay, Corinto y Balgüe (isla de Ometepe), lo que alcanza un muestreo representativo del 30% (281/918).

En el total del estudio (**Figura 34**), como en cada una de las tres islas estudiadas (**Figura 34**), se encontró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) indicando que las heces de consistencia blanda son las más prevalentes (66%; 186/281) y las heces de consistencia líquida son las menos prevalentes (14%; 39/281), a pesar de las prevalencias elevadas de parasitación detectadas.

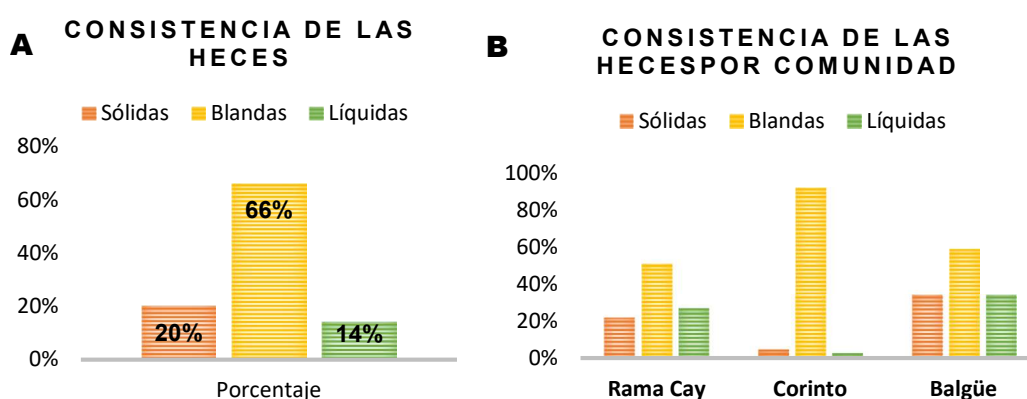


Figura 34: (A) Porcentajes de consistencia de las heces totales (B) porcentajes de la consistencia de las heces por comunidad.

A continuación, se realizó el estudio de las prevalencias de infección según la consistencia de las heces. En las sólidas, se evidencia que el porcentaje de muestras negativas es el más elevado (39%; 22/56), seguido de muestras con P/PP+C (32%; 18/56) y de las muestras con P/PP exclusivamente (27%; 15/56). Al realizar el análisis detallado de las especies P/PP encontradas, se detecta por partes iguales *Blastocystis* sp., *T. trichiura* y *A. lumbricoides* (32%; 18/56), seguido de *G. duodenalis* (21%; 12/56) (**Figura 35**).

Al analizar las heces blandas, se evidencia nuevamente predominio de muestras negativas (40%; 74/186), lo que resulta similar al caso anterior. Sin embargo, en este caso, en cuanto a muestras positivas, los porcentajes de P/PP son más elevados (34%; 63/186) frente al 17% (32/186) que corresponde a P/PP+C. Al realizar el análisis detallado de las especies P/PP se encuentra que *Blastocystis* sp. (35%; 65/186) es la

especie de mayor porcentaje de infección seguido de *T. trichiura* (27%; 50/186) y *A. lumbricoides* (24%; 44/186) (**Figura 36**).

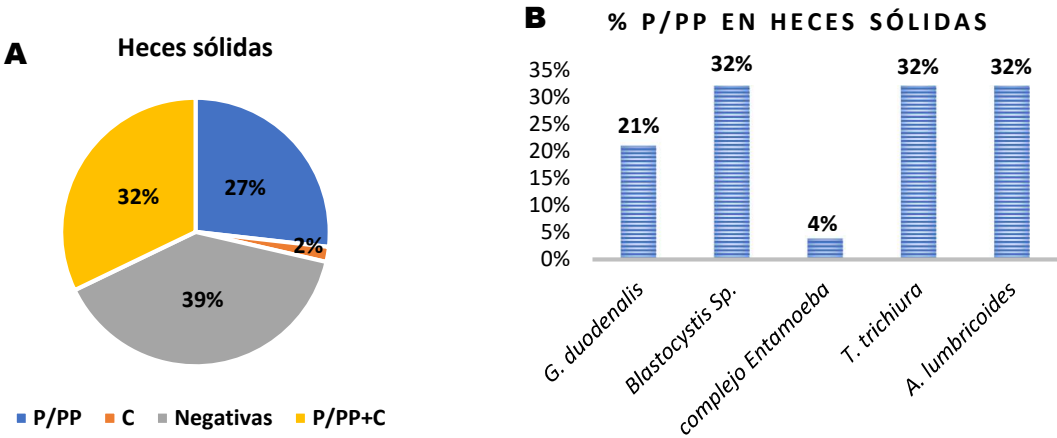


Figura 35: (A) Identificación de casos con Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP), Comensales (C), Negativas y Patógenos/Potencialmente Patógenos+Comensales (P/PP+C) en heces sólidas (B) Porcentaje de especies P/PP detectadas en heces sólidas.

Con respecto a las heces líquidas, cabe destacar que las muestras negativas ostentan el menor porcentaje (28%; 11/39) con respecto a las demás consistencias. De las muestras positivas, el mayor porcentaje se corresponde con P/PP (44%; 17/39), mientras que el 20% (8/39) corresponde a P/PP+C. Al revisar detalladamente las muestras P/PP, el mayor porcentaje corresponde a infecciones por *A. lumbricoides* (44%; 17/39) seguido de *T. trichiura* (41%; 16/39) y *Blastocystis* sp. (31%; 12/39) (**Figura 37**).

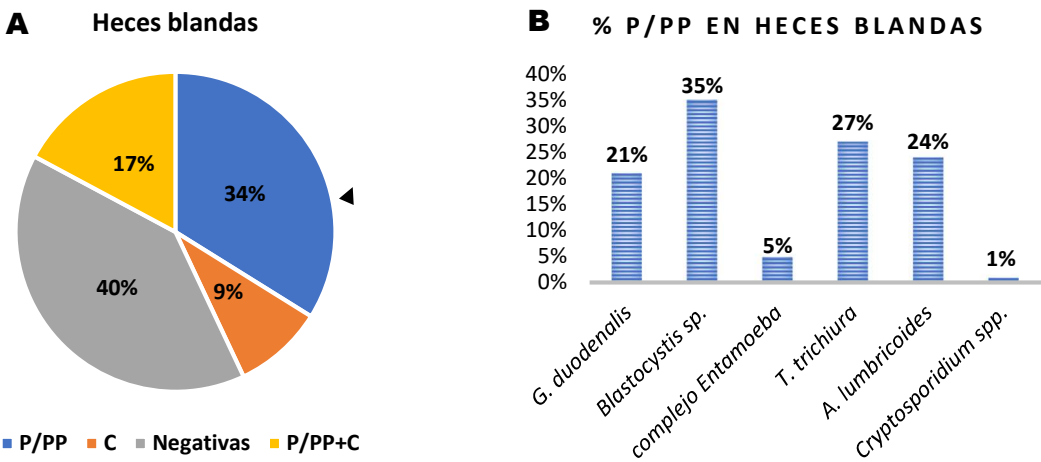


Figura 36: (A) Identificación de casos con Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP), Comensales (C), Negativas y Patógenos/Potencialmente Patógenos+Comensales (P/PP+C) en heces blandas **(B)** Porcentaje de especies P/PP detectadas en heces blandas

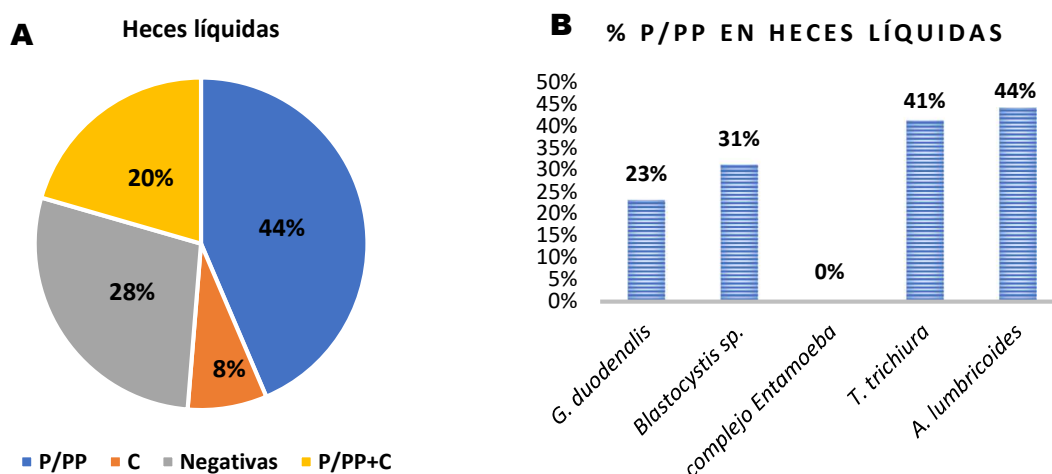


Figura 37: (A) Identificación de casos con Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP), Comensales (C), Negativas y Patógenos/Potencialmente Patógenos+Comensales (P/PP+C) en heces líquidas **(B)** Porcentaje de especies P/PP detectadas en heces líquidas

Al analizar la presencia de las especies P/PP en cada una de las consistencias, sólo se encuentra diferencias estadísticamente significativas ($p=0,031$) en el caso de *A. lumbricoides*, siendo este helminto el que con mayor frecuencia se encuentra en las heces de consistencia líquida tal y como se observa en la **Tabla 46**.

Tabla 46. Especies P/PP detectadas en las heces según consistencia (%= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p- valor = valor estadístico; *= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*).

Especies P/PP	Consistencia de las heces									p-valor
	Sólidas			Blandas			Líquidas			
	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	n	%	IC 95%	
<i>Blastocystis</i> sp.	18	32	20,9-45,2	65	35	28,4-42	12	31	17,9-46,4	0,844
Complejo <i>Entamoeba</i> *	2	4	0,6-11,3	10	5	2,8-9,4	-	-	-	0,845
<i>G. duodenalis</i>	12	21	12,2-33,6	39	21	15,6-27,3	9	23	11,9-38,1	0,958
<i>T. trichiura</i>	18	32	20,9-45,2	50	27	20,9-33,6	16	41	26,5-56,8	0,197
<i>A. lumbricoides</i>	18	32	20,9-45,2	44	24	17,9-30,2	17	44	28,8-59,3	0,031

3.5.3.- En relación con las vías de transmisión

Para determinar cuánto de frecuente es la vía de transmisión de las especies P/PP detectadas en este estudio, se ha considerado agrupar dichas especies más relevantes en tres posibles vías de transmisión: a) parásitos transmitidos por el suelo (*A. lumbricoides*, *T. trichiura* y ancilostómidos); b) parásitos transmitidos por contacto directo (*G. duodenalis*, complejo *Entamoeba*, *Cryptosporidium* spp, *Blastocystis* sp., *H. nana*); y c) parásitos transmitidos por alimentos/agua (*G. duodenalis*, complejo *Entamoeba*, *Cryptosporidium* spp., *Blastocystis* sp., *A. lumbricoides* y *T. trichiura*). Nótese que, los parásitos que comparten distintas vías de transmisión han sido contemplados en cada uno de los posibles grupos.

En el total de las islas estudiadas, se alcanza 551 muestras positivas con alguna especie P/PP. La vía de transmisión por alimentos/agua es la mayoritaria (94%; 520/551) con diferencias estadísticamente significativas con respecto a la transmisión por contacto directo (84%; 463/551) ($p < 0,0001$) y a la transmisión a partir del suelo contaminado (36%; 200/551) ($p < 0,0001$), como se observa en la **Figura 38**.

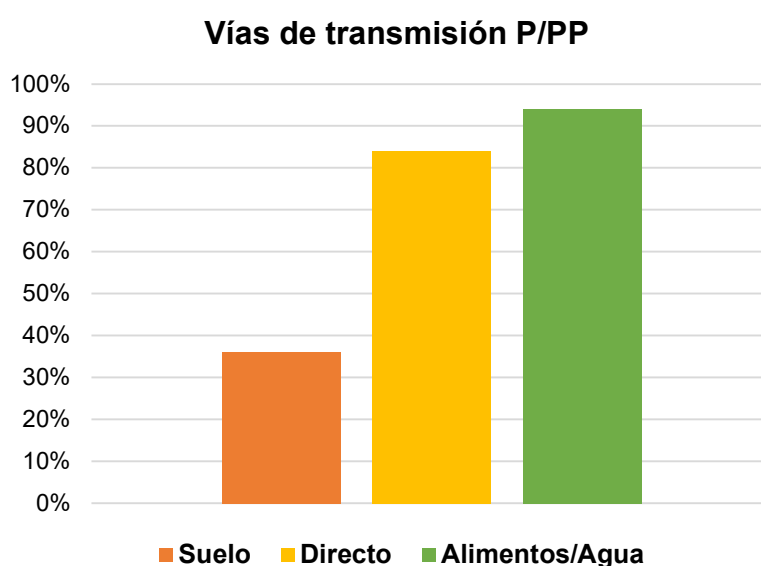


Figura 38: Vías de transmisión de la infección de especies P/PP.

La frecuencia de las vías de transmisión de especies P/PP obtenida en cada una de las islas se observa en la **Figura 39**. La transmisión por alimentos/agua contaminados es mayoritaria en El Bluff (94%; 102/109), la isla de Rama Cay (79%; 94/119) y la isla Corinto (56%; 49/88). Sin embargo, esta vía de transmisión deja de ser la mayoritaria,

nivelándose con la transmisión por contacto directo, en el Archipiélago de Solentiname (77%; 68/88) y en la isla de Ometepe (40%; 207/514).

Aparece diferencias estadísticamente significativas en cada una de las islas estudiadas con respecto a la vía de transmisión más frecuente (alimentos/agua). Sin embargo, en Rama Cay no se detecta diferencias estadísticamente significativas en el nivel de infección por la vía de alimentos/agua contaminada y suelo contaminado ($p=0,038$). Igualmente, ni en Ometepe, Corinto y Solentiname, se detecta diferencias estadísticamente significativas por la vía de alimentos/agua contaminada y por la vía de contacto directo ($p=0,786$; $p=0,206$; y $p=0,999$).

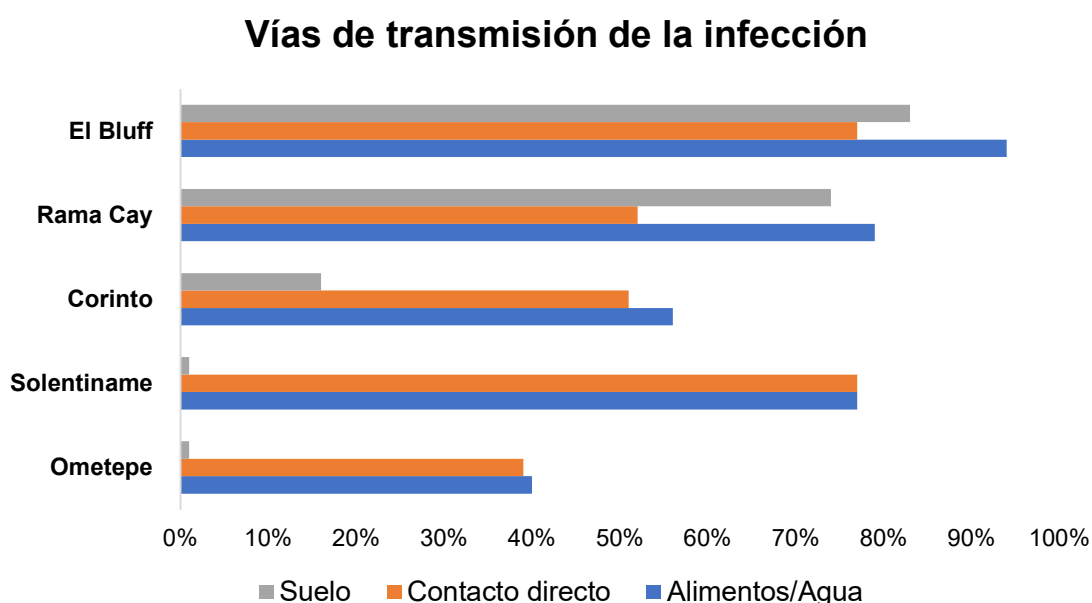


Figura 39: Vías de transmisión de la infección de especies P/PP en cada una de las Islas estudiadas.

3.5.4.- En relación a la región geográfica

Con los datos obtenidos en el apartado de las vías de transmisión de la infección de las especies P/PP se puede abordar la relación de la infección según la distribución geográfica de las islas estudiadas. Así, las islas de El Bluff y Rama Cay pertenecen a la zona geográfica del Caribe, mientras que las islas de Corinto y Ometepe junto con el Archipiélago de Solentiname, pertenecen a la zona geográfica del Pacífico (**Figura 40**).

La vía de transmisión por alimentos/agua es la mayoritaria en ambas regiones (100%; 196/196 y 91%; 324/355, respectivamente). La transmisión por contacto directo es superior en la región Pacífico (89%; 317/355) comparado con la región del Caribe (74%; 146/196), pero sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas ($p=0,675$). Sin

embargo, en la región Caribe, la vía de transmisión por suelo contaminado (91%; 178/196) es 15 veces mayor que en la región Pacífico (6%; 22/355), con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$).

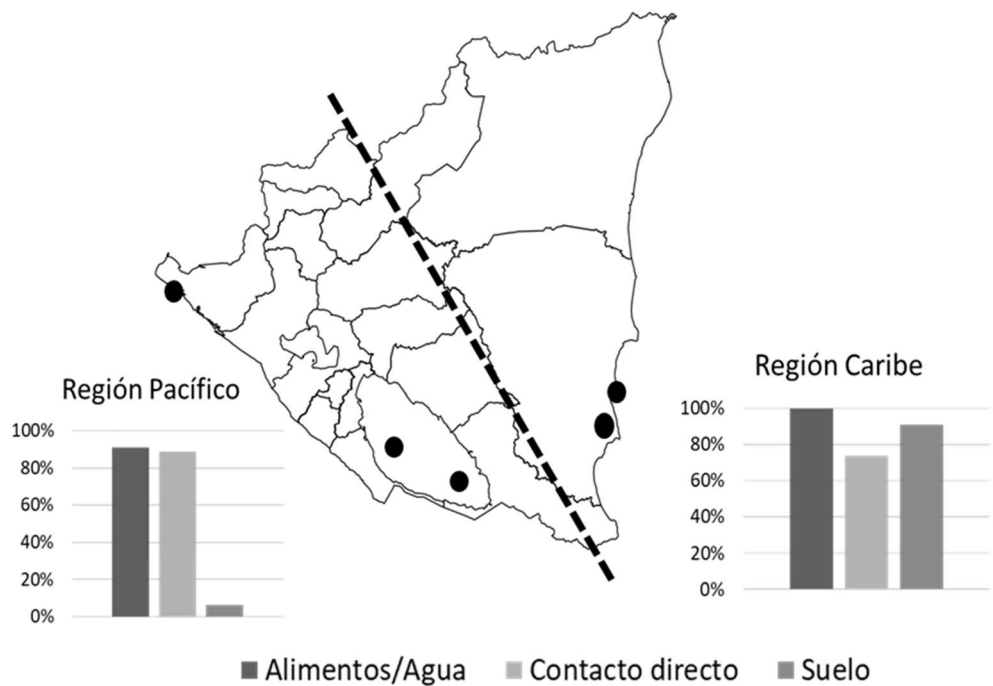


Figura 40: Relación de la infección según las vías de transmisión de la infección en las zonas geográficas (Pacífico y Caribe).



Capítulo 4.- Discusión

Capítulo 4.- Discusión

El objetivo general de esta Tesis Doctoral radicaba en completar el estudio epidemiológico de las parasitosis intestinales en población infantil nicaragüense, abarcando las islas nicaragüenses existentes, tanto en región Pacífico como en región Caribe, puesto que solo se contaba con el dato previo de geohelminos en población insular de Corn Island (Muñoz-Antoli *et al.*, 2018b). Como ya se ha comentado, se asume que los entornos insulares implican un aislamiento geográfico que puede afectar al desarrollo y la transmisión parasitaria (Fernández-Palacios y Morici, 2004). De ahí que la hipótesis de partida de esta Tesis Doctoral, consista en aportar más claridad y conocer si la insularidad interviene en el espectro parasitario y las prevalencias de parasitación. Tradicionalmente, se considera que el espectro parasitario en una isla se encontraría cualitativamente disminuido con respecto al obtenido en poblaciones continentales próximas, mientras que cuantitativamente aparecería aumentado.

En este capítulo, se procederá a discutir los hallazgos más relevantes que se han obtenido durante este estudio y compararlos con estudios anteriores, con la finalidad de poder comentar similitudes y/o diferencias. En este sentido, cabe recordar que en Nicaragua no se dispone de mucha información relacionada.

4.1.- En relación al espectro parasitario y prevalencias de parasitación

4.1.1.- Espectro parasitario

En este trabajo se ha llegado a recontar un total de 17 especies parásitas (11 protistas, 4 helmintos y 2 esporas) puesto que, gracias al empleo de caracterización e identificación molecular en la isla de Corinto, se ha identificado muestras con *C. hominis* y con *E. dispar*.

El rango de especies parásitas detectadas en los estudios previos llevados a cabo en Nicaragua oscila entre 13 y 20 especies parásitas (Cavuoti y Lancaster, 1992; Téllez *et al.*, 1997; Oberhelman *et al.*, 1998; Téllez *et al.*, 2005; Leiva *et al.*, 2006; Lebbad *et al.*, 2008; Rosewell *et al.*, 2010; Muñoz-Antoli *et al.*, 2011, 2014; Becker-Dreps *et al.*, 2015; Muñoz-Antoli *et al.*, 2017, 2018 a,b; Gozalbo *et al.*, 2021; Muñoz-Antoli *et al.*, 2022; Gutiérrez *et al.*, 2024; Muñoz-Antoli *et al.*, 2024). Esto vendría a indicar, contrariamente a lo esperado, que no

hay una reducción cualitativa evidente del espectro parasitario dentro de las islas, lo que demuestra el mantenimiento de la transmisión parasitaria a nivel insular.

De forma detallada, lo que se observa es que el espectro es ligeramente superior en las islas de la región Caribe (11-12 especies) con respecto a las islas de la región Pacífico (7-10 especies). Citar el caso especial de la isla de Ometepe, en el que se identifica hasta 14 especies, debido a que se incluye la cita de dos especies de Myxozoa, por tratarse de una curiosidad como parásitos en tránsito, que no habían sido descritos en seres humanos previamente en Nicaragua. Lo que llama la atención en el espectro parasitario detectado, como se comentará posteriormente en esta discusión, es la notable reducción de la infección por helmintos en la región Pacífico en comparación con la región Caribe.

En el presente estudio la presencia de protistas es prácticamente homogénea en las diferentes islas estudiadas, oscilando entre 6 y 10 especies, mientras que las especies de helmintos se reducen a 1 sola especie en el caso del archipiélago de Solentiname. Además, comentar que los protistas patógenos /potencialmente patógenos P/PP se distribuyen de forma prácticamente homogénea en todas las islas estudiadas. En los estudios previos llevados a cabo en Nicaragua se ha identificado un total de 15 especies de protistas y de 9 especies de helmintos intestinales (Cavuoti y Lancaster, 1992; Téllez *et al.*, 1997; Oberhelman *et al.*, 1998; Téllez *et al.*, 2005; Leiva *et al.*, 2006; Lebbad *et al.*, 2008; Rosewell *et al.*, 2010; Muñoz-Antoli *et al.*, 2011, 2014; Becker-Dreps *et al.*, 2015; Muñoz-Antoli *et al.*, 2017, 2018 a,b; Gozalbo *et al.*, 2021; Muñoz-Antoli *et al.*, 2022; Gutiérrez *et al.*, 2024; Muñoz-Antoli *et al.*, 2024).

4.1.2.- Prevalencias de parasitación

La prevalencia de infección total obtenida en este estudio, incluyendo los resultados del estudio microscópico actualizándolos con los del estudio molecular, supone un 68,8% en la población infantil insular.

Si tenemos en cuenta las diferentes islas estudiadas, los porcentajes de parasitación oscilan en un rango entre 57,6% y 95,4%, correspondientes a la isla de Ometepe y a la isla de El Bluff, respectivamente. Los porcentajes de parasitación más elevados se alcanzan en la isla de Rama Cay (81,5%) y en la isla de El Bluff (95,4%), ambas localizadas en la región Caribe, como Laguna de Perlas, donde ya se había citado un 94,6% de parasitación (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017). De forma puntual, en la región Pacífico en el Archipiélago de Solentiname se alcanza un porcentaje de parasitación similar

(81,8%). En el resto de estudios previos de Nicaragua las prevalencias oscilan entre un 40% (Tellez *et al.*, 1997) hasta un 97% (Muñoz-Antoli *et al.*, 2022). Nuevamente, con los porcentajes obtenidos, se contradice la hipótesis de que en el ambiente insular se produzca un incremento cuantitativo de la parasitación.

En países colindantes, las prevalencias también resultan elevadas. Así, en Honduras se encuentra una prevalencia del 87% (Naceanceno *et al.*, 2020) y en diversas zonas de Colombia las prevalencias superan el 90% (Medina *et al.*, 2009; Bryan *et al.*, 2021) alcanzando incluso el 100% (Hernández *et al.*, 2019).

4.1.2.1- Protistas: P/PP y C

En general, se detecta una dominancia de infección por protistas (63,4%) sobre helmintos (21,8%) en el total de las islas estudiadas, si bien de forma detallada, se observa que esto ocurre solo en la región del Pacífico, puesto que los porcentajes de protistas y helmintos en las islas de la región Caribe estudiadas son similares.

En estudios previos realizados en Nicaragua los protistas también resultan más prevalentes que los helmintos en los distintos departamentos estudiados, con unas prevalencias que oscilan entre 65,9% en pre-escolares de la región Pacífico (Muñoz-Antoli *et al.*, 2018b) hasta 88,2% en escolares de Río San Juan (Muñoz-Antoli *et al.*, 2014). En población adulta se ha citado una gran diferencia entre la prevalencia de protistas (51%) y la de helmintos (0,6%) (Muñoz-Antoli *et al.*, 2024). Dichos autores explican que las altas prevalencias detectadas solo de protistas, podrían deberse a una escasa información sanitaria de la población que, acostumbrada a participar en programas antihelmínticos, confíen que dichos tratamientos farmacológicos también sean efectivos contra infecciones por protistas.

Sin embargo, cabe comentar que, en población infantil de la zona rural caribeña, la prevalencia de protistas se asemeja a la de los helmintos (78,1% y 76,7%, respectivamente (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017). La necesidad de campañas informativas para evitar las formas de infección, junto con la incorporación y establecimiento de medidas de profilaxis y de tratamientos masivos, sigue resultando necesario en estas poblaciones más rurales.

A nivel general, dentro de los protistas, la prevalencia de los P/PP (50,4%) y de los C (36,9%) es muy semejante. Atendiendo a las diferentes islas estudiadas, los P/PP aparecen con porcentajes semejantes a los C excepto en el archipiélago de Solentiname y en la isla de El Bluff, donde los P/PP alcanzan el 72,3% y el 71,1%, respectivamente.

En el total del estudio, las especies de protistas P/PP encontradas como más prevalentes fueron *Blastocystis* sp. (37,4%) seguida de *G. duodenalis* (22,9%), como también ocurre en cada una de las islas estudiadas.

En los trabajos existentes de los distintos departamentos de Nicaragua, siempre se encuentra a *Blastocystis* sp. como la especie de protista P/PP más prevalente, con prevalencias que oscilan entre el 42% y el 77,7% (Muñoz-Antoli *et al.*, 2014, 2017, 2018a, 2024).

En Colombia, aunque también se presenta a *Blastocystis* sp. como la especie más prevalente, las prevalencias se encuentran muy por debajo de los resultados hallados en el presente estudio (15,8%) (Osorio-Pulgarín *et al.*, 2021). Estos autores también reportan prevalencias de esta especie en Brasil y Panamá (40,7% y 21,2% respectivamente).

Dentro de los protistas considerados de tipo C, la especie *E. coli* (23,3%) resultó la más prevalente en todas las islas estudiadas. Solo en la isla de Corinto, el porcentaje de *E. coli* (18,2%) fue superado por *E. nana* (20,5%). Igualmente, en la mayoría de estudios previos que incluyen protistas comensales, se cita también dominancia de *E. coli* (Leiva *et al.*, 2006; Muñoz-Antoli *et al.*, 2014; 2017, 2018 a; Gozalbo *et al.*, 2021; Muñoz-Antoli *et al.*, 2022; Gutiérrez *et al.*, 2024; Muñoz-Antoli *et al.*, 2024).

4.1.2.2.- Esporas

Como se ha comentado inicialmente, el espectro en la isla de Ometepe incluye la presencia de 2 esporas que fueron únicamente detectadas en esta isla. Estas esporas, clasificadas como *Myxobolus* spp. y *Henneguya* spp., no han sido mencionadas en ningún estudio previo en seres humanos en Nicaragua. Se trata de parásito de peces generalmente de agua dulce, que causa aparición de quistes blanquecinos en los diferentes tejidos causando a veces deformidades visibles, pudiendo afectar y alterar la estructura ósea debido a que las deformidades impiden la normal movilidad (Vallejo y Pitalúa, 2002) De momento, no se sabe con certeza si están presentes en seres humanos como casos aislados de parásito en tránsito o se han llegado a instalar en el tracto gastrointestinal de los menores de esta zona del país.

Los reportes en seres humanos tanto de las esporas de *Myxobolus* como las de *Henneguya* sugieren relación con la ingesta de pescado de agua dulce (McClelland *et al.*, 1997; Moncada *et al.*, 2001). Este hecho parece ser frecuente en la isla de Ometepe donde se reporta el consumo habitual de la especie conocida como Tilapia (*Oreochromis*), que

se trata de un pez de agua dulce que habita en arroyos poco profundos, estanques, ríos y lagos. Son peces de aguas cálidas, que viven tanto en agua dulce como salada, e incluso pueden acostumbrarse a aguas poco oxigenadas. Su distribución como especie exótica se extiende por América central, el sur del Caribe, Norteamérica y el sudeste asiático (FAO, 2009).

Dichas esporas se pudieron identificar en base al estudio detallado de su morfología con tinción de Ziehl Neelsen modificado, tal y como sugiere Moncada *et al.*, (2001), donde las esporas de forma piriforme, adquieren un color rosa intenso. Contienen en el extremo superior dos cápsulas polares simétricas en cada lado, mientras que en el extremo inferior el espacio central es ocupado por el esporoplasma. Al realizar el estudio morfométrico, se encontró que las medidas promedio oscilaban entre 8-9 μm de ancho y 14-15 μm de largo. Estas descripciones morfométricas coinciden con las realizadas previamente en otros estudios de Colombia, Brasil, Gambia y Australia (Boreham *et al.*, 1998; Moncada *et al.*, 2001; Bradbury *et al.*, 2015; Dos Reis *et al.*, 2019).

Hasta la fecha, se han descrito 466 especies de *Myxobolus*, la mayoría proveniente de peces. Tanto en el estudio de Moncada *et al.* (2001) como en el presente estudio esporas se asemejan a las denominadas *Myxobolus macrocapsularis* o *Myxobolus cultus*. Sin embargo, cabe recordar que para establecer con exactitud la especie detectada se necesita realizar estudios de microscopía electrónica de transmisión o la secuencia del gen 18S del ARN ribosomal. Con las limitaciones del material fijado utilizado en este estudio, las esporas se han considerado únicamente como pertenecientes al género *Myxobolus*.

Tal y como menciona Boreham *et al.* (1998), las esporas pertenecientes al género *Myxobolus* o mixosporianas, son notablemente resistentes a diversas condiciones ambientales y pueden sobrevivir al paso por el tracto digestivo de vertebrados sin alteración de su morfología. Sin embargo, un estudio previo (Moncada *et al.*, 2001) indica que el hallazgo de la espora no es puramente accidental, ya que su resistencia tanto a condiciones externas como internas (jugos gástricos), hace posible la evolución y el desarrollo completo de la espora. Así, en este estudio previo, el paciente inmunodeprimido presentaba parasitación con varias especies parásitas causantes de diarrea y a pesar de recibir tratamiento parasitológico, un control realizado al cabo de 2 meses reveló persistencia de la diarrea y presencia de esporas de *Myxobolus* spp. en el material fecal. Una desventaja en nuestro estudio transversal fue que no se pudo obtener más muestras fecales de los pacientes diagnosticados para ver la evolución.

Las esporas del género *Henneguya* presentaban un cuerpo esporular en forma de lágrima de aproximadamente 9 µm de largo, que se iba estrechando al final con dos filamentos polares. En la región anterior esporular del cuerpo aparecen dos cápsulas polares. La longitud total media de estas esporas alcanza 39 µm, lo que coincide con la descripción inicial (McClelland *et al.*, 1997). Estos autores utilizaron microscopía electrónica para la confirmación de la especie, encontrando también que estas esporas tenían una capa externa lisa. Además, estos mismos autores, gracias a la tinción con hematoxilina férrica modificada (McClelland *et al.*, 1997), observaron que las esporas apenas presentaban un ligero color rosado, mientras que gracias a la tinción tricrómica modificada, lograron una tinción de las esporas mucho más brillante permitiendo una mejor visualización de las estructuras internas mostrando que las cápsulas polares parecían contener un interior rayado. En el presente estudio, al realizar la tinción de Ziehl Neelsen modificado, se ha podido observar que las esporas adquirirían una tonalidad ligeramente rosada y, gracias al estudio de las mismas mediante visión directa, se logró una visualización detallada tanto de las cápsulas polares como de su contenido de líneas horizontales, coincidiendo con el estudio inicial (McClelland *et al.*, 1997). Cabe mencionar que no hay evidencia de que estos parásitos sean capaces de causar enfermedades en humanos, ya que no ha sido posible atribuir ninguna sintomatología con la presencia de estas esporas.

4.1.2.3.- Helmintos

En lo que respecta a los helmintos, la prevalencia total de infección en todas las islas estudiadas alcanza un 21,8%, siendo muy abierto el rango de oscilación desde un 1,1% en el archipiélago de Solentiname hasta un 81,7% en la isla de El Bluff. Estas elevadas prevalencias se asemejan al 72,3% reportado en un estudio realizado en Honduras (Mejía Torres *et al.*, 2014). Dichos autores justifican las altas prevalencias de geohelmintos con la falta de infraestructura y con un saneamiento deficiente, a pesar que las escuelas implementan programas de “escuelas saludables”. Además, las características típicamente rurales de la población de la isla de El Bluff podrían ser las desencadenantes de este nivel tan alto de infección.

Sin embargo, los bajos porcentajes de helmintos detectados en varias de las islas estudiadas en este trabajo no son casos puntuales, puesto que resultan similares a los reportados en un estudio llevado a cabo en Bolivia donde las prevalencias de helmintos resultaron escasas (5,9%) (Macchioni *et al.*, 2015). Este descenso de la parasitación helmíntica podría deberse a diversos factores. Por un lado, las modificaciones de los

rangos de temperatura y las precipitaciones (Ihnacik *et al.*, 2022), así como las condiciones del suelo (Chege *et al.*, 2020), que se consideran los factores críticos que más afectan a la distribución de geohelminths. Pero, además, se debe tener en cuenta los programas masivos de desparasitación con antihelmínticos (OMS, 2017) que se implementan en áreas endémicas con prevalencias $\geq 20\%$.

Pese a los evidentes logros conseguidos, son necesarios más estudios de índole epidemiológica que demuestren la eficacia de estos programas en el tiempo, puesto que las estimaciones en América Latina y el Caribe siguen advirtiéndolo que al menos 13,3 millones de niños en edad preescolar y 33,7 millones de niños en edad escolar están en riesgo de infectarse con alguna especie de geohelminths, entre los que destaca *A. lumbricoides*, *T. trichiura* y ancilostómidos (Saboya *et al.*, 2013). Así, en varias localidades de Honduras las prevalencias para helmintos en niños escolares se mantienen elevadas, por encima del 40%, llegando a alcanzar hasta un 59,7% (Mejía Torres *et al.*, 2014).

En Nicaragua, las especies más detectadas son *T. trichiura* (con porcentajes que oscilan entre 3,8% y 72,4%) y *A. lumbricoides* (con porcentajes que oscilan entre 2,3% y 36,9%) (Cavuoti y Lancaster, 1992; Téllez *et al.*, 1997; Oberhelman *et al.*, 1998; Leiva *et al.*, 2006; Rosewell *et al.*, 2010; Muñoz-Antoli *et al.*, 2014; 2017, 2018 a,b; Gozalbo *et al.*, 2021; Muñoz-Antoli *et al.*, 2022; Gutiérrez *et al.*, 2024; Muñoz-Antoli *et al.*, 2024). En este trabajo, la especie de helminto más prevalente ha resultado *T. trichiura* alcanzando 19,1%, seguida de *A. lumbricoides* con el 11,2%. Sin embargo, la dominancia no se mantiene en todas las islas. Así, los resultados de este estudio muestran que la especie más prevalente en la isla de Rama Cay resulta ser *A. lumbricoides* (64,7%), quedando *T. trichiura* con una prevalencia menor (58,8%), mientras que en El Bluff la especie más prevalente resulta ser *T. trichiura* (78,8%), quedando *A. lumbricoides* con una tasa inferior (18,3%). Las altas tasas de parasitación se relacionan con medidas y/o comportamientos higiénicos deficientes (Rocha, 2003).

Actualmente la dominancia de *T. trichiura* sobre *A. lumbricoides* parece generalizarse en Latinoamérica. En un estudio realizado en Honduras también detectan a *T. trichiura* como la especie más prevalente (34%) seguida de *A. lumbricoides* (22,3%) (Mejía Torres *et al.*, 2014). Estos autores informan de un estudio previo en otra región de Honduras donde nuevamente *T. trichiura* resulta la especie más prevalente (67%) seguida de *A. lumbricoides* (30%). Igualmente, estudios de países vecinos citan a *T. trichiura* como la más prevalente (63,2%) (Naceanceno *et al.*, 2020). Comentar que, aunque alcanzando valores inferiores, que oscilan entre 12,4% (Hernández *et al.*, 2019) y 25,9% (Medina *et al.*,

2009), la especie *T. trichiura* también es la más prevalente en Colombia. Esto podría relacionarse con que *A. lumbricoides* ha dejado de aparecer en las zonas más urbanas, para aparecer más frecuentemente en zonas rurales, como se cita en un trabajo de Colombia, comparando las prevalencias entre la zona urbana y rural, encontrando que *A. lumbricoides* aparecía más frecuentemente en los menores de zonas rurales (50%) frente a menores de zona urbana (19,4%) (Bryan *et al.*, 2021). En la misma línea, la infección reportada para *A. lumbricoides* en Honduras solo alcanzó un 15,8% en zonas urbanas (Naceanceno *et al.*, 2020) y, en Colombia, oscilaba entre el 5,2% (Hernández *et al.*, 2019) y el 24,1% (Medina *et al.*, 2009).

Un hecho que se repite en todos los estudios sobre helmintos en Nicaragua es la falta de detección de especies de trematodos. La complejidad de sus ciclos evolutivos, siempre necesitando la presencia de un caracol específico que actúe como hospedador intermediario, sería posiblemente la causa de que no se haya citado aún en Nicaragua. Así, el último informe de la OMS no reporta ningún caso de esquistosomiasis humana en Nicaragua.

4.1.3.- Monoparasitismo y multiparasitismo

En los estudios previos realizados en Nicaragua, aunque el multiparasitismo es elevado (oscilando entre el 42,6% y el 75,8%) no siempre presenta diferencias con respecto al monoparasitismo (Muñoz-Antoli *et al.*, 2014, 2017, 2018a, 2024). En las islas estudiadas, solo aparece diferencias entre monoparasitismo y multiparasitismo en la región Caribe y en el archipiélago de Solentiname, que, a pesar de su ubicación en la región Pacífico, siempre resulta el más semejante a los resultados caribeños. Parece ser que el multiparasitismo se generaliza allí donde las reinfecciones se producen de forma habitual. Estos resultados son similares a los reportados en Colombia, donde el multiparasitismo alcanzó un 89,2% y un máximo de 7 especies en un mismo individuo (Agudelo-López *et al.*, 2008).

4.1.4.- Variable sexo y edad

En el presente trabajo, se ha encontrado que el sexo masculino suele presentar prevalencias de parasitación general más elevadas, por protistas y por helmintos. Tanto en la isla de Rama Cay como en la isla de El Bluff, el sexo masculino resulta más parasitado, lo cual podría coincidir con lo expuesto en estudios previos realizados en Honduras por Mejía *et al.* (2014), donde informan que el sexo masculino presentaba un

23% más de posibilidades que las mujeres de presentar parasitación por geohelminetos. Con respecto a las posibles causas, se podría asociar a la disminución de los cuidados de los progenitores, añadiendo además que los menores del sexo masculino tienden a realizar más actividades al aire libre que suelen implicar mayor contacto con el suelo húmedo (jugar al fútbol en las calles y/o en campos abiertos) teniendo en cuenta que las condiciones socioeconómicas de dichas regiones no permiten tener canchas/pistas en condiciones óptimas para la realización de estas actividades al aire libre.

Sin embargo, en el archipiélago de Solentiname, solo el sexo femenino presenta parasitación por helmintos (2,2%), coincidiendo, tanto con Laguna de Perlas (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017), como con el estudio realizado en la R.A.A.N (actualmente R.A.C.C.N) (Muñoz-Antoli *et al.*, 2022), donde predominaban las infecciones en el sexo femenino asociando esta alta parasitación con los malos hábitos higiénicos y el contacto con tierra contaminada.

A nivel general, y analizando las prevalencias detectadas en ambos sexos, los resultados obtenidos se asemejan a los obtenidos en estudios anteriores (Espinosa *et al.*, 2011; Muñoz-Antoli *et al.*, 2014; 2018a) que indican que ambos sexos se ven afectados de igual manera.

En lo que respecta a los resultados obtenidos por grupos de edad, en este trabajo se considera que todos los grupos de edad presentan la misma susceptibilidad a la infección, si bien el grupo de 12-14 años es el que presenta las mayores prevalencias de infección en la mayoría de las islas estudiadas. Trabajos previos en Nicaragua, realizados tanto en la región Pacífico como en la región Caribe (Muñoz-Antoli *et al.*, 2018b; 2022), justifican este hecho debido a que, a mayor edad, mayor exposición, lo que significa que los de más edad tienen más autonomía, menos vigilancia, pueden jugar solos en actividades al aire libre y están expuestos a más factores de riesgo.

En la mayoría de las islas estudiadas, en el grupo de edad de 6-11 años se observa mayores prevalencias de helmintos, mientras que en el grupo de 12-14 años de edad se observa porcentajes más elevados de protistas. Estos resultados concuerdan con lo reportado en el departamento de Río San Juan donde se encontró relación entre la edad y la parasitación, por lo que se sugiere que la edad es un factor de riesgo (Muñoz-Antoli *et al.*, 2014). Tradicionalmente, se considera que en los primeros años de vida los menores permanecen controladamente bajo el cuidado de sus progenitores mientras que los de mayor edad podían compartir más tiempo fuera del hogar sin ningún cuidado facilitando la infección (Muñoz-Antoli *et al.*, 2014). Sin embargo, no se debe considerar que la infección es directamente proporcional a la edad, puesto que no aumenta de

forma directamente proporcional siempre, ya que a medida que el individuo crece y sus hábitos higiénicos mejoran se reduce las oportunidades de contacto con las formas infectantes de los parásitos además de aumentar la tolerancia a los mismos por una madurez inmunológica (Rivero *et al.*, 2012).

4.1.5.- Variable zona geográfica

Como se puede observar tanto en este estudio como en la mayoría de los estudios previos, las prevalencias de infección resultan superiores en la región Caribe (88,2%) con respecto a la región Pacífico (62,5%). Así, los porcentajes de infección detectados en el presente trabajo van desde un 57,6% en la región Pacífico, correspondiente a la isla de Ometepe, hasta un 95,4% en la región Caribe, correspondiente a la isla de El Bluff. Tanto en los protistas, sobre todo en las especies P/PP, como en los helmintos las prevalencias son superiores en la región Caribe.

En la región Pacífico, otros autores en estudios previos reportan desde un 40% de prevalencia de infección (Téllez *et al.*, 1997; Oberhelman *et al.*, 1998; Rocha 2003; Muñoz-Antoli *et al.*, 2018a) hasta un 92,9% (Muñoz-Antoli *et al.*, 2014). Con respecto a la región Caribe, las altas prevalencias reportadas en este trabajo coinciden con las reportadas anteriormente, que oscilan entre un 94,6% hasta un 97% (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017, 2022).

Las diferencias detectadas en el espectro y en las prevalencias orientan a un estudio de forma pormenorizada entre ambas regiones: A) Pacífico y B) Caribe (**Tabla 47**).

A) A nivel de región Pacífico: a pesar de que la isla de Ometepe y el archipiélago de Solentiname se encuentran ambas en el lago Cocibolca separados tan solo por 220 Kms, el espectro parasitario que se detecta es notablemente diferente. Mientras que en el archipiélago se encuentra un espectro de solo 7 especies, en la isla se detecta hasta 14 especies (incluyendo las esporas en tránsito de *Myxobolus* spp y *Henneguya* spp. tal y como se ha comentado anteriormente). De forma intermedia, en la isla de Corinto se identifica 11 especies (gracias a la aproximación molecular que ha permitido la caracterización de *E. dispar* y de *C. hominis* como se comentará posteriormente). Existe trabajos previos, llevados a cabo en esta misma región Pacífico, donde se detecta espectros parasitarios de entre 15 y 20 especies, superiores a los detectados en el presente trabajo (Muñoz-Antoli *et al.*, 2014; 2018a).

Tabla 47. Espectro parasitario y prevalencias por regiones (p-valor entre total Región Pacífico y total Región Caribe; *= *E. histolytica*/ *E. dispar*/ *E. moshkovskii*; ^ *Ancylostoma duodenale*/*Necator americanus*; %= prevalencia; IC95%= intervalo de confianza 95%; p-valor = valor estadístico).

	Región Pacífico (n=690)							Región Caribe (n=228)					
N=918	Ometepe (n=514)	%	Solentiname (n=88)	%	Corinto (n=88)	%	TOTAL Pacífico %	Rama Cay (n=119)	%	El Bluff (n=109)	%	TOTAL Caribe %	p-valor
Protistas	278	54,1	72	81,8	59	67,0	59,3	77	64,7	96	88,1	75,9	<0,0001
Patógenos/Potencialmente Patógenos (P/PP)	204	39,7	68	72,3	45	51,1	45,9	63	59,9	83	71,1	64	<0,0001
<i>Blastocystis</i> sp.	137	26,7	62	70,5	27	30,7	32,8	48	40,3	69	63,3	51,3	<0,0001
Complejo <i>Entamoeba</i> *	11	2,1	6	6,8	4*	4,5	3	7	5,9	6	5,5	0,1	0,030
<i>Cryptosporidium hominis</i>	-	-	-	-	2	2,3	0,3	-	-	-	-	-	-
<i>Dientamoeba fragilis</i>	2	0,3	-	-	1	1,1	0,4	1	0,8	-	-	0,4	0,567
<i>Giardia duodenalis</i>	95	18,5	27	30,7	20	22,7	20,6	27	22,7	42	38,5	30,3	0,003
Comensales	168	32,7	40	45,5	27	30,7	34,1	51	42,9	53	48,6	45,6	0,053
<i>Chilomastix mesnili</i>	4	0,7	-	-	1	1,1	0,7	9	7,7	2	1,8	4,8	0,001
<i>Endolimax nana</i>	60	11,7	33	37,5	18	20,5	16,1	29	24,4	33	30,3	27,2	<0,0001
<i>Entamoeba coli</i>	114	22,2	19	21,6	16	18,2	21,6	30	25,2	35	32,1	28,6	0,040
<i>Entamoeba hartmanni</i>	37	7,2	-	-	2	2,3	5,7	13	10,9	13	11,9	11,4	0,005
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	4	0,7	1	1,1	-	-	0,7	1	0,8	8	7,3	3,9	0,001
Esporas	16	3,1	-	-	-	-	2,3	-	-	-	-	-	-
<i>Henneguya</i> spp.	7	1,4	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
<i>Myxobolus</i> spp.	11	2,1	-	-	-	-	1,6	-	-	-	-	-	-
Helmintos	8	1,6	1	1,1	14	15,9	3,3	88	73,9	89	81,7	77,6	<0,0001
Ancilostómidos^	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	10,1	4,8	-
<i>Ascaris lumbricoides</i>	4	0,7	-	-	2	2,3	0,9	77	64,7	20	18,3	42,5	<0,0001
<i>Hymenolepis nana</i>	1	0,2	-	-	-	-	0,1	-	-	2	1,8	0,9	0,314
<i>Trichuris trichiura</i>	4	0,7	1	1,1	13	14,8	2,6	70	58,8	87	78,8	68,9	<0,0001
Total +	296	57,6	72	81,8	63	71,6	62,5	97	81,5	104	95,4	88,2	<0,0001

*4 casos identificados como *E. dispar*

Respecto a las especies de protistas P/PP comentar que la presencia de *G. duodenalis* se mantiene de forma constante en las distintas islas estudiadas en esta región Pacífico, mientras que *Blastocystis* sp. destaca como el más prevalente en el archipiélago de Solentiname, llegando a alcanzar prevalencias muy elevadas (70,5%), coincidiendo con estudios previos en Nicaragua (Muñoz-Antoli *et al.*, 2014) y en países vecinos como en una población rural de Honduras, donde *Blastocystis* sp. alcanzó el 71,6% (Naceanceno *et al.*, 2020) y en Argentina donde también fue la especie más prevalente alcanzando el 54,4% (Dib *et al.*, 2012).

Además, se ha observado como en el archipiélago de Solentiname, *Blastocystis* sp., el protista de mayor porcentaje, se presenta seguido de especies de protistas comensales como es el caso de *E. nana* (37,5%). Este entorno de protistas P/PP y de C se repite tanto en estudios previos nicaragüenses (Dib *et al.*, 2012; Muñoz-Antoli *et al.*, 2014; 2017; Devera *et al.*, 2014) como en estudios de países vecinos, como Venezuela (Lacoste *et al.*, 2012) y Colombia (Hernández *et al.*, 2019), donde los porcentajes más elevados se encontraron en el comensal *E. nana* (77,3%) seguido de *Blastocystis* sp. (71%).

En lo que respecta a los helmintos en la región Pacífico, que resultan escasamente prevalentes (3,3%), llama la atención que las prevalencias correspondientes a la isla de Ometepe y el archipiélago de Solentiname no alcancen el 2% y solo en el caso de la isla de Corinto, se llegue a alcanzar un 15,9% de infección helmíntica. Sin embargo, estudios previos de esta región describen hasta un 52,9% de infección por helmintos (Muñoz-Antoli *et al.*, 2014), asociados a la falta de infraestructuras en las zonas periféricas, el consumo de agua del río (Gamboa *et al.*, 2009) e incluso las creencias culturales pueden favorecer la transmisión parasitaria (Karan, Chapman y Galvani., 2012).

En general, las menores prevalencias detectadas en esta región Pacífico podrían indicar que las campañas de educación están siendo bien recibidas y acatadas por la comunidad, de forma que la mejoría en hábitos higiénicos personales (Freeman *et al.*, 2013; Chege *et al.*, 2020), combinado con la administración de antihelmínticos, han logrado una reducción evidente en la infección helmíntica (Prieto-Pérez *et al.*, 2016). Así, el refuerzo de programas educativos con la finalidad de crear conciencia en la población sobre temas de higiene y conductas adecuadas de saneamiento ambiental que ayuden a mejorar las prevalencias de infección detectadas, podrían ser el motivo por el que, en la isla de Corinto, los porcentajes de geohelmintos alcanzan solamente el 2,3% para *A. lumbricoides*. Sin embargo, la detección en dicha isla de Corinto de 14,8% para *T. trichiura* podría relacionarse con los resultados de otro estudio en la región Pacífico (Rosewell *et al.*, 2010), donde se sugiere que las medidas antihelmínticas que se utilizan

en unidosis (albendazol y mebendazol), y que además son las utilizadas a nivel mundial, pueden ser muy eficaces en los casos de infecciones por *A. lumbricoides*, pero menos eficaces en el caso de *T. trichiura*.

Respecto al mono y multiparasitismo, los resultados obtenidos en este estudio en la región del Pacífico nicaragüense muestran que el monoparasitismo es más frecuente en las distintas islas estudiadas, alcanzando prevalencias de hasta un 31,5%. El presente resultado coincide con otros trabajos previos realizados en esta región del país donde las prevalencias eran similares (Rosewell *et al.*, 2010; Leiva *et al.*, 2006). También señalar incluso prevalencias más elevadas de monoparasitismo alcanzando hasta un 42,6% (Muñoz-Antoli *et al.*, 2018a). Igualmente, las prevalencias descritas en zonas rurales de Honduras, en la región Pacífico (Naceanceno *et al.*, 2020), el multiparasitismo alcanza porcentajes de hasta un 27,4%, similar a lo encontrado en este estudio en las islas de Ometepe y Corinto (26,1% y 23,9% respectivamente).

Pese a ello, en el archipiélago de Solentiname, el multiparasitismo aparece con cifras cuatro veces más elevadas que el monoparasitismo, llegando a alcanzar un 70,8%, similar a lo descrito en otro estudio previo de la región donde se alcanzó un porcentaje de parasitación por múltiples especies de un 85,5% (Muñoz-Antoli *et al.*, 2014).

B) A nivel de la región Caribe: estudios previos realizados en Laguna de Perlas (costa Caribe) (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017), coinciden con los resultados obtenidos en este estudio relativos a las islas de Rama Cay y El Bluff, ambos en la misma zona caribeña. En cuanto al espectro, citar la aparición de hasta 13 especies distintas en Laguna de Perlas (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017), similar a las 11 y 12 especies detectadas en este trabajo en las islas de Rama Cay y El Bluff, respectivamente.

Las especies de protistas detectadas en la isla de Rama Cay (64,7%) y la isla de El Bluff (88,1%), se aproxima al detectado previamente en Laguna de Perlas en la misma región caribeña (78,1%) (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017). Comentar que solo en la isla de El Bluff la mayor prevalencia de *Blastocystis* sp. (63,3%) va seguida de otro protista patógeno (*G. duodenalis* 38,5%) en vez de por un protista comensal.

En cualquier caso, hay que destacar que en todos los trabajos de la región Caribe se encuentra una dominancia de helmintos. Se llega a detectar porcentajes del 73,9% en la isla de Rama Cay y del 81,7% en la isla de El Bluff, similares a las prevalencias de Laguna de Perlas (76,7%) (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017), con una dominancia de la especie *T. trichiura* en la isla de El Bluff (79,8%), como ya se había evidenciado previamente en Laguna de Perlas (72,4%) (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017).

Los porcentajes reportados en esta Tesis Doctoral para *T. trichiura*, junto con los reportados en el ambiente insular caribeño de Corn Island, que oscilan entre 32,9% y 48,9% (Muñoz-Antoli *et al.*, 2018b), confirman el predominio de parasitación helmíntica de *T. trichiura* superior al de *A. lumbricoides* (Cavuoti y Lancaster, 1992; Rosewell *et al.*, 2010; Muñoz-Antoli *et al.*, 2014; 2017; 2018b).

Sin embargo, *A. lumbricoides* ha resultado más prevalente que *T. trichiura* en la isla de Rama Cay, alcanzando porcentajes del 64,7%, que suponen los valores más elevados de los reportados previamente en Nicaragua. Así, en estudios previos las prevalencias de *A. lumbricoides* en la región Caribe oscilaban entre un 27,1% en Laguna de Perlas (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017) hasta un 36,9% en Puerto Cabezas (Muñoz-Antoli *et al.*, 2022). En el ambiente insular de Corn Island, las prevalencias reportadas de *A. lumbricoides* solo alcanzaban entre el 15,7% y el 19,9% (Muñoz-Antoli *et al.*, 2018b). Cabría resaltar, que la población de Rama Cay es principalmente indígena y que tal y como se reporta en estudios previos realizados en Centroamérica, la población indígena presenta una especial vulnerabilidad a enfermedades tropicales desatendidas principalmente las causadas por helmintos (Hotez *et al.*, 2014).

Resumiendo, las infecciones de *A. lumbricoides* y *T. trichiura* en la región Caribe se mantienen elevadas pero variables según la zona. Al revisar puntualmente las condiciones climatológicas en la zona de Bluefields (donde se ubica la isla de El Bluff) y El Rama (donde se ubica la isla de Rama Cay), se encuentra pequeñas diferencias en cuanto a la acumulación de lluvias mensuales, siendo la zona de Bluefields la que mayor acumulación de lluvia presenta (147 mm³) con respecto a la zona de El Rama (108 mm³). Esto podría ser indicativo de que a la especie *T. trichiura* le favorece mucho más una mayor humedad que a la especie *A. lumbricoides* y, por tanto, se pudiera explicar que, a pesar que la distancia entre una comunidad y la otra es inferior a 20 Km², los porcentajes de helmintos entre una zona y la otra presentan disparidad.

En cuanto al monoparasitismo y multiparasitismo, lo más frecuente es encontrar casos de multiparasitismo (Lustigman *et al.*, 2012). En la región Caribe se obtiene el 70%, coincidiendo con lo aportado en Laguna de Perlas (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017), llegando a presentarse en un mismo individuo hasta 8 especies parásitas, relacionándolo con que algunas especies son capaces de modular la respuesta inmunológica permitiendo la coinfección. Por otro lado, se podría contemplar la opción de que el multiparasitismo ocurra debido a los medicamentos que se emplean para la desparasitación, puesto que se suele administrar tratamientos dirigidos a combatir solo los helmintos y nunca tratamientos combinados que presenten eficacia contra helmintos y protistas. Además,

se tendría que tener en cuenta que existen otros factores externos (ambientales, sociales y biológicos) que determinan la transmisión parasitaria (Fernández-Niño *et al.*, 2017) y que el acceso al tratamiento en este tipo de comunidades no siempre permite mantener la periodicidad establecida por la OMS cuando los resultados de parasitación superan el 50% (desparasitación 2 veces al año) (OMS, 2020).

4.2.- En relación a los resultados moleculares en la isla de Corinto

4.2.1.- *Giardia duodenalis*

La isla de Corinto, correspondiente a la región Pacífico, se aborda de manera individual y complementaria, debido al trabajo de índole molecular que se pudo llevar a cabo, generando datos de genotipado para identificar la diversidad de especies patógenas/potencialmente patógenas (P/PP), abordando principalmente *G duodenalis* y *Blastocystis* sp., lo que permite esclarecer las fuentes de infección y las vías de transmisión de éstas.

En el caso de la isla de Corinto, la prevalencia de infección se incrementó en 17 puntos (del 54,5% al 71,6%) con la aplicación de la caracterización molecular. Se diagnosticaron más muestras positivas de *G. duodenalis*, de *Blastocystis* sp y de *Cryptosporidium hominis*. demostrando la utilidad del diagnóstico molecular para la reducción de falsos negativos (Becker *et al.*, 2011). Además, como se comentará más adelante, se ha podido identificar la presencia de *E. dispar*. En concreto, gracias a la aplicación de diagnóstico molecular se incrementó en 10 muestras el número de positivas de *G. duodenalis* en la isla de Corinto. Estas discrepancias sugieren la recomendación de incluir diversas técnicas diagnósticas en estudios epidemiológicos, en los que se disponga de tan solo una muestra por participante. Sin embargo, en Nicaragua, hay escasez de trabajos previos que impliquen abordaje molecular, lo que reduce la posibilidad de discusión de los resultados obtenidos. Asimismo, esta discrepancia podría deberse a una baja carga parasitaria.

Giardia duodenalis, una de las principales especies relacionada con casos de diarrea en seres humanos y animales (Cacciò *et al.*, 2002), se detecta de forma muy común en los niños de Nicaragua, lo que supone una importante repercusión a nivel de salud pública, teniendo en cuenta que las infecciones están estrechamente relacionadas con

alteraciones en el desarrollo cognitivo y retraso del crecimiento en menores (Gutiérrez *et al.*, 2024). Pese a que actualmente no existe estudios formales que se centren en las consecuencias de dicha infección en niños de Nicaragua, existe evidencias que demuestran que *G. duodenalis* es causante de episodios de gastroenteritis aguda en los menores de edad (Gutiérrez *et al.*, 2024). Por consiguiente, los niños nicaragüenses infectados podrían presentar tallas (medidas) inferiores con respecto a los que no están parasitados (Gamboa *et al.*, 2011).

Gracias a la información molecular de esta especie, se sabe que, se trata de un complejo de especies conformada por ocho ensamblajes que van desde el A hasta el H (Ryan *et al.*, 2021), siendo A y B los mayormente reportados en seres humanos. Desde un enfoque basado en salud pública, el mayor riesgo zoonótico se presenta en el ensamblaje A ya que resulta infeccioso para los seres humanos que conviven con animales domésticos, animales silvestres y ganado doméstico (Appelbee *et al.*, 2003; Lalle *et al.*, 2005; Cociancic, Zonta y Navone, 2018).

A nivel mundial también se ha informado de casos en seres humanos con ensamblajes C y F que son adaptados de animales (Cai *et al.*, 2021). En este estudio, las cinco secuencias que se pudieron analizar de las muestras positivas para *G. duodenalis* indicaron que el ensamblaje con mayor prevalencia fue el B (60%) seguido del A (40%). Este resultado coincide con estudios previos llevados a cabo en Nicaragua, concretamente en los departamentos de León (79% vs. 21%) y Masaya (100% vs. 0%) (Muñoz-Antoli *et al.*, 2024; Lebbad *et al.*, 2008). La dominancia del sub- ensamblaje BIII coincide con la reportada en muchos países latinoamericanos (Sarria-Guzman *et al.*, 2022). Al no presentarse ensamblajes adaptados a animales, todo apunta a que los casos de infección en los menores se presentan de manera antroponótica. Esto coincide con el reciente trabajo reportado en niños con gastroenteritis en Nicaragua (Gutiérrez *et al.*, 2024), donde se demuestra un limitado riesgo zoonótico de transmisión de *G. duodenalis*, encontrando que animales, como gatos y perros, suponen incluso un factor de protección frente a la infección.

4.2.2.- *Blastocystis* sp.

Ha quedado demostrado la necesidad de la aplicación de técnicas moleculares en estudios epidemiológicos destinados a conocer el espectro parasitario y las prevalencias de parasitación.

No todas las muestras identificadas como positivas para *Blastocystis* sp. por microscopía óptica pudieron detectarse a nivel molecular, de forma que, descartando errores de diagnóstico microscópico y descartando falsos positivos, se podría pensar en la existencia de una baja carga parasitaria.

La clasificación taxonómica de *Blastocystis* sp., ha sido tradicionalmente muy compleja. Se le ha considerado como un eucariota, como un protozoo intestinal y como un protista de relevancia para la salud pública debido a la capacidad que tiene de colonizar a hospedadores diversos (Jiménez, Jaimes y Ramírez., 2019), ya que infecta a más de mil millones de personas en el mundo, siendo sus prevalencias más elevadas en zonas tropicales y subtropicales de países en desarrollo (Osorio *et al.*, 2021). Actualmente se sitúa dentro del grupo heterogéneo de los stramenopiles (protistas unicelulares y multicelulares incluyendo algas y mohos acuáticos) (Jiménez, Jaimes y Ramírez, 2019; Hublin, Maloney y Santin, 2021).

Blastocystis sp. es la especie más prevalente encontrada en muestras fecales humanas a nivel mundial. Infecta a una gran variedad de hospedadores vertebrados, incluyendo seres humanos, en los que su patogenicidad sigue siendo controvertida. Por un lado, se le ha asociado con síntomas gastrointestinales, como dolor abdominal, diarrea y vómito, incluyendo diversidad de síntomas cutáneos como urticaria, en ausencia de otra causa de enfermedad. Por otro lado, también es frecuente su presencia en personas sin ninguna sintomatología considerándolo como un microorganismo común en la microbiota intestinal sana. A pesar que sigue abierto el debate sobre su patogenicidad, en nuestro estudio se considera incluirlo entre especies P/PP.

Blastocystis sp., se encuentra también en animales, tanto domésticos como salvajes, sin que en ellos se haya documentado sintomatología alguna (Hublin, Maloney y Santin, 2021; Matovelle *et al.*, 2022). De igual forma, *Blastocystis* sp. ha sido detectado en suministros de agua, indicando que el agua podría actuar como vehículo en la transmisión, tanto a seres humanos como a animales (Hublin, Maloney y Santin, 2021; Koehler *et al.*, 2024). Asimismo, otros autores proponen que el suelo sea incluido como una vía nueva de transmisión para ser considerada en el futuro, con la intención de mejorar la comprensión y diversidad ecológica de esta especie (Jinatham *et al.*, 2021).

Así, un estudio realizado en Argentina sobre las condiciones ambientales y su relación con la parasitación, encontró que en 82,3% de las muestras de suelo estudiadas y el 84,2% de las muestras de agua estudiada, se encontraron elementos parasitarios y parásitos que también fueron identificados en seres humanos de las comunidades, lo cual deja en evidencia que, tanto el suelo como el agua, fueron la fuente de parasitación (Basualdo *et al.*, 2007).

A nivel europeo, y dado el creciente interés de *Blastocystis* sp. en relación a su alta capacidad de infección, se está tratando de elaborar un mapeo general de esta especie de forma que en todos y cada uno de los distintos países se consiga unificar los criterios diagnósticos (Akdur Öztürk *et al.*, 2025). Sin embargo, en Latinoamérica los datos moleculares sobre la epidemiología de los distintos subtipos de *Blastocystis* sp. se limitan a estudios específicos de 10 países (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, Honduras, México, Panamá y Perú) (Fusaro *et al.*, 2024). Hasta la fecha, sólo se dispone de un estudio molecular previo en población adulta de los subtipos de *Blastocystis* sp. existentes en Nicaragua (Muñoz-Antoli *et al.*, 2024). La presente Tesis Doctoral, aunque de forma preliminar sólo con muestras procedentes de la isla de Corinto, contribuye a obtener una imagen más completa de los diferentes subtipos de *Blasyocystis* sp. en Nicaragua, abarcando población infantil, y comprender verdaderamente la distribución y prevalencia de esta especie en Latinoamérica.

Se asume que *Blastocystis* sp. tiene una amplia prevalencia y distribución presentando al menos 44 subtipos (STs) (Santin *et al.*, 2024; Figueiredo *et al.*, 2025), de los cuales, 16 (ST1 a ST10, ST12, ST14, ST16, ST23, ST35 y ST41) se han reportado en seres humanos (Hernández-Castro *et al.*, 2023). Además, la mayoría de subtipos que han sido aislados en seres humanos también se han identificado en animales (Santin, Molokin y Maloney, 2023; Koehler *et al.*, 2024; Šejnohová *et al.*, 2024), lo cual le da una importancia aún más relevante en epidemiología debido al riesgo zoonótico.

El análisis de las 23 secuencias positivas para *Blastocystis* sp. obtenidas en la isla de Corinto permitió la identificación de ST1 (60,9%, 14/23), ST2 y ST3 (17,4%, 4/23 cada uno). Estas frecuencias se asemejan a las reportadas previamente en la única encuesta de diversidad molecular de *Blastocystis* sp. realizada en Nicaragua (ST1: 64,3%; ST2: 14,3%; ST3: 21,4%) (Muñoz-Antoli *et al.*, 2024). Estos tres subtipos son los más comúnmente encontrados en seres humanos en Latinoamérica (Fusaro *et al.*, 2024). Llama la atención que el subtipo ST4 de *Blastocystis* sp. no fuera identificado en ninguno de estos dos estudios, lo que corrobora que esta variante genética es rara en países latinoamericanos (Fusaro *et al.*, 2024). Curiosamente, se identificó un caso del subtipo

ST7 (4,3 %, 1/23), que con mayor frecuencia se encuentra en aves, esto podría ser indicativo de un posible evento de transmisión zoonótica por aves. De hecho, en la encuesta puntual de la niña parasitada se reportaba que había tenido contacto con aves de corral y que tenían loros en casa. Esta información, junto con la evidente ausencia de otros subtipos que están presentes en animales (ST6, ST8) sugieren que la mayoría de los casos detectados en este estudio han sido de manera antroponótica.

4.2.3.- Otros protistas

A nivel mundial *Cryptosporidium* spp., es reconocido por ser uno de los mayores causantes de diarrea moderada/severa en menores de cinco años (Kotloff *et al.*, 2013). Las prevalencias reportadas en Nicaragua, siendo principalmente identificado mediante microscopía convencional, resultan bajas oscilando entre 0,1% a 14,9%. Pese a esto, la tasa de prevalencia alcanzada mediante técnicas moleculares es de 35,7% como se ha comentado en la introducción (**véase Tabla 1**) (Muñoz-Antoli *et al.*, 2011). En el presente estudio se ha alcanzado una prevalencia total de 2,3%, siendo las muestras identificadas como *Cryptosporidium hominis*. Por tanto, se puede asumir como mayoritaria nuevamente la transmisión de tipo antroponótico. Este resultado es novedoso puesto que, en el único estudio molecular encontrado previamente en Nicaragua, realizado en Río San Juan con 97 muestras, la especie encontrada fue únicamente *Cryptosporidium parvum* (Muñoz-Antoli *et al.*, 2011), lo que sugiere transmisión zoonótica cuya fuente probable pudiera ser rumiantes o el ganado (Feltus *et al.*, 2006). Esta información deja en evidencia la necesidad de ampliar estudios que incluyan trabajo molecular en Nicaragua con la finalidad de esclarecer la epidemiología de *Cryptosporidium* spp.

Al realizar una revisión de estudios previos en otros países, los resultados coinciden con los de este estudio en el que se reporta porcentajes muy bajos de este coccidio. Podría considerarse que el ciclo de transmisión de esta especie está influenciado por el medio ambiente, por lo tanto, es particularmente sensible a los cambios climáticos (Lal *et al.*, 2013). En Honduras pese a ser un país tropical con altas prevalencias de parásitos intestinales, según un estudio previo, informa que en el país no se tiene reportes detallados de esta especie. A pesar de ello, un estudio previo realizado en pacientes con VIH reportó una prevalencia de 3,9% identificados como *C. parvum* (Betancourth *et al.*, 2021). En Colombia, aunque se ha reportado la especie en trabajos basados únicamente en microscopía convencional, no cuentan con muchos estudios moleculares para realizar identificación exacta. Sin embargo, uno de los pocos estudios llevado a

cabo también reporta una prevalencia baja (2,4%) identificando además *C. hominis* y *C. meleagridis* (Galvan-Díaz *et al.*, 2020). En Guatemala, las prevalencias reportadas han sido de 15,4%, aunque las más recientes se asemejan mucho a las comentadas anteriormente (2,5%) (Cruz *et al.*, 1988; Roegner *et al.*, 2021).

De sobra es conocido que el complejo *Entamoeba*, está conformado por varias especies, morfológicamente iguales, y solamente *E. histolytica* causa patogenicidad sin que se tenga aún total claridad de la capacidad patógena de las demás especies, puesto que *E. moshkovskii* se considera una ameba de vida libre y *E. dispar* se considera un comensal intestinal de los seres humanos (Fotedar *et al.*, 2007). Al no poderse conseguir una diferenciación morfológica a nivel microscópico, se hace necesario realizar la identificación específica mediante técnicas moleculares (Korpe, 2021). Esta necesidad se refuerza a medida que la dinámica cultural cambia, ya que las continuas migraciones favorecen la importación de estas parasitosis, por lo que se recomienda que cuando se diagnostique quistes del complejo *Entamoeba* por microscopía convencional se proceda a realizar diferenciación mediante técnicas moleculares (Gutiérrez-Cisneros *et al.*, 2010).

En este trabajo, cuatro de los menores estudiados resultaron positivos para especies del complejo *Entamoeba*, identificándose mediante PCR como *Entamoeba dispar* en todos los casos. Este resultado concuerda con estudios previos realizados en Nicaragua (Leiva *et al.*, 2006) y con otros llevados a cabo en otros países en desarrollo (Kebede *et al.*, 2004). Todo apunta a que la microscopía convencional puede diagnosticar falsos negativos, o incluso, puede hacer que se sobreestimen las prevalencias reales de *E. histolytica* (Leiva *et al.*, 2006).

En la actualidad, en países latinoamericanos no se dispone de información de patógenos como *Cystoisospora belli* y los microsporidios *Enterocytozoon bieneusi* y *Encephalitozoon* spp. (Legua y Seas, 2013). Sin embargo, cabe destacar que son estos protistas capaces de infectar tanto animales como seres humanos, causando entre el 30% y el 50% de los casos de diarrea crónica en pacientes con SIDA (Buckholt., Lee y Tzipori, 2002). Ningún estudio previo realizado en Nicaragua ha identificado la presencia de estos agentes en seres humanos. En este estudio, tratando de recopilar información epidemiológica en este país, se realizó una búsqueda de estas especies en los menores estudiados. Sin embargo, los resultados fueron negativos, es decir, no se logró identificar ninguna de estas especies investigadas molecularmente. Cabe comentar que este estudio en la isla de Corinto se realizó con un número muy reducido de muestras, por lo que los resultados deben considerarse de forma preliminar.

Los resultados obtenidos en la isla de Corinto ratifican, una vez más, que las enfermedades parasitarias en Nicaragua continúan siendo un problema de salud pública afectando principalmente a la población infantil, lo que contribuye a perpetuar el ciclo de pobreza, poniendo de manifiesto la necesidad de implementar intervenciones en salud pública que perduren a lo largo del tiempo. Además, se evidencia también la necesidad de diseñar estudios epidemiológicos de las parasitosis en Nicaragua previendo el empleo de técnicas de diagnóstico molecular.

4.3.- En relación a los resultados de intensidad helmíntica

En este estudio se ha tratado de conocer tanto la prevalencia como la intensidad de parasitación por helmintos, considerando que el diagnóstico coproparasitológico es una herramienta fiable para el control de las helmintiasis (Barda *et al.*, 2014). De acuerdo con el protocolo de la OMS (OMS, 2002, 2019), el método para identificar y cuantificar huevos de helmintos considerado de referencia es la técnica de Kato-Katz. Actualmente, se ha demostrado como la fijación de las heces con formalina y la incubación con glicerol mejora el rendimiento de este método (Wisetmora *et al.*, 2024).

Conocer la intensidad de parasitación es fundamental, en estudios individuales, poblacionales, estudios de eficacia de tratamiento y control de las parasitosis (Cringoli *et al.*, 2010), ya que, para suministrar un tratamiento antihelmíntico correcto, la dosis dependerá de la carga parasitaria presentada. Sin lugar a dudas, algunos menores pueden necesitar una dosis única y otros pueden requerir 2 dosis. De igual forma, la elección del fármaco puede variar en función a la intensidad, de ello dependerá la eficacia del tratamiento, además, la optimización del mismo (OMS, 2017).

La utilización de técnicas novedosas como la de Mini-FLOTAC cobra relevancia ya que permite una clasificación de la intensidad, siendo sensible, asequible y aplicable con todo tipo de muestras de material fecal (Barda *et al.*, 2013). Incluso, se puede considerar su aplicación en enclaves con recursos limitados, con dificultades en el acceso a las comunidades y con dificultad en la conservación de las muestras.

Además, no debemos olvidar que, en países como Nicaragua, donde las prevalencias de infección por geohelmintos resultan elevadas, y donde además es probable que se presente parasitación por geohelmintos (*A. lumbricoides*, *T. trichiura* y ancilostómidos) simultáneamente, con las implicaciones que conlleva para el desarrollo físico, mental y

cognitivo (Bethony *et al.*, 2006; Ojha *et al.*, 2014). Se ha documentado que las infecciones de intensidad moderada a severa tienen un impacto significativo para el desarrollo físico y cognitivo de los menores, especialmente en edad escolar (Mejía *et al.*, 2014). Todo esto indica que es importante determinar la intensidad de parasitación, ya que tiene grandes consecuencias en el correcto desarrollo de los menores.

Los resultados de este estudio, en cuanto a intensidad se refieren, demuestran que mayoritariamente se presenta infecciones de tipo leve para todas las especies. Un estudio previo realizado por Muñoz-Antoli *et al.* (2022) indica que las intensidades leves de *T. trichiura* son normales en áreas endémicas donde la mayoría de los menores albergan cargas bajas o moderadas. Otros autores encontraron que las intensidades moderadas a severas se presentan en casos de infecciones únicas (Gabrie *et al.*, 2016). En otro sentido, también se propone relacionar la mayor intensidad con el multiparasitismo entre especies parásitas de geohelminthos (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017; 2018b).

Sin embargo, las intensidades obtenidas en la isla de Corinto y la isla de Rama Cay, alcanzan nivel de carácter severo para *T. trichiura* y nivel de carácter moderado para *A. lumbricoides*, respectivamente. Estos resultados coinciden con los estudios previos realizados en Nicaragua, en Laguna de Perlas (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017) y en la isla de Corn Island (Muñoz-Antoli *et al.*, 2018b), en condiciones similares a las islas estudiadas en el presente trabajo. Dichos autores, gracias al empleo de la técnica de Kato-Katz, encontraron predominio de infecciones de carácter leve-severo para *T. trichiura* y para *A. lumbricoides*. Estos resultados podrían estar asociados con el proceso de reinfección, debido a la continua exposición a ambientes insalubres, conductas higiénicas inadecuadas y falta de infraestructura de saneamiento. También, comentar que, en la isla de Corinto, en los casos donde la infección alcanzó un nivel de intensidad severa para *T. trichiura*, aparecía multiparasitismo con *A. lumbricoides*, coincidiendo con estudios previos (Muñoz-Antoli *et al.*, 2017; 2018b). De forma similar, en Honduras, también se reporta tanto el predominio de infecciones de carácter leve (Mejía *et al.*, 2014), como infecciones que llegan a alcanzar niveles moderada-severa para *T. trichiura* y *A. lumbricoides* (Gabrie *et al.*, 2016).

Es cierto que las prevalencias de infección por geohelminthos, cuando alcanza niveles superiores al 2% de intensidad moderada-severa, se debe considerar como un problema de salud pública (Díaz *et al.*, 2021). En el presente trabajo, los porcentajes de 15% y 31% de intensidad moderada para *T. trichiura* y *A. lumbricoides*, respectivamente, evidencian

que estos geohelminthos siguen significando un problema de salud pública en las islas de Corinto y Rama Cay.

El predominio de la intensidad helmíntica de carácter leve en la mayoría de las islas correspondientes a este estudio, y lo visto en estudios previos incluyendo los realizados en otros países, podría indicar que las intervenciones basadas en el tratamiento farmacológico pudiesen estar funcionando correctamente pese a que la evidencia muestra que merece la pena hacer ajustes a los programas de intervención en salud mayoritariamente en la región Caribe. Además, un estudio realizado en varios países de Latinoamérica informa que existe una brecha significativa en los datos publicados sobre la prevalencia e intensidad de la infección por geohelminthos en América Latina y el Caribe (Chammartin *et al.*, 2013; Saboyá *et al.*, 2013).

4.4.- En relación a variables de infección

Como se ha comentado en los resultados obtenidos, la infección simultánea de diversas especies (multiparasitismo) es una frecuente forma de infección en las islas estudiadas. Así, si se considera las especies de patógenos y/o potencialmente patógenos (P/PP) más prevalentes detectadas, se puede determinar las asociaciones de infección más frecuentes. Los resultados obtenidos en el presente trabajo reflejan que un 87% de la población presenta parasitación por especies P/PP. Estos resultados son superiores a los encontrados en Colombia por Medina *et al.* (2009) donde se encontró que el 48% de su población estudiada presentaba parasitación por especie P/PP, encabezados por *E. histolytica/dispar*, y por Hernández *et al.* (2019), quienes reportaron un 46,6% de su población con especies P/PP liderados por *G. duodenalis*.

En este trabajo, teniendo en cuenta las especies P/PP, se encontraron múltiples asociaciones de infección. En general se encontraron 16 binomios posibles, siendo el más prevalente *Blastocystis* sp. + *T. trichiura* (16,4%). Esta asociación también se encontró en un estudio previo realizado en Honduras (Naceanceno *et al.*, 2020). La segunda asociación detectada como más prevalente fue de *G. duodenalis* + *Blastocystis* sp. (15%), seguida de *T. trichiura* + *A. lumbricoides* (12,2%) y, finalmente, *G. duodenalis* + *T. trichiura* (10%).

Al revisar estas asociaciones de manera detallada se observa que en 4 de las 5 islas estudiadas (Ometepe, Solentiname, Corinto y El Bluff) la asociación más prevalente siempre es de *Blastocystis* sp. con otra especie, cuyos porcentajes se encuentran entre un 11% y un 55%, mientras que, y únicamente en la isla de Rama Cay, la asociación

más prevalente es entre especies de helmintos (*T. trichiura* + *A. lumbricoides* 60,8%). Como se ha comentado anteriormente, la asociación entre geohelmintos, al tratarse de especies parásitas que comparten la ruta de infección a partir de suelos contaminados, se podría relacionar con la falta de correctas medidas aplicadas en la isla de Rama Cay que evitaran la contaminación fecal ambiental.

Con respecto a la asociación de la infección con la consistencia del material fecal, pese a no tener información completa de todas las islas y sus respectivas comunidades, en este estudio se encontró que la consistencia fecal blanda fue la más prevalente (66%) seguido de la consistencia sólida (20%). En lo que respecta a las heces líquidas, comentar que tan solo han aparecido en el 14% del material fecal analizado, siendo la consistencia estadísticamente menos prevalente. La sintomatología intestinal de índole parasitaria generalmente se relaciona con heces diarreicas (blandas y/o líquidas). Sin embargo, solo el 17% de las heces de consistencia blanda y el 20% de las heces de consistencia líquida presentaron parasitación tanto por especies P/PP como comensales (C), mientras que el mismo tipo de parasitación, con especies P/PP y C, aparece en el 32% de las heces sólidas, lo que evidencia que la aparición de especies P/PP y C no se puede asociar con sintomatología gastrointestinal evidente.

Igualmente, los resultados de este estudio no llegan a confirmar la relación entre la consistencia de las heces líquidas y la parasitación por especies P/PP. Así, aunque un 44% de las heces de consistencia líquida presentaban parasitación por especies P/PP, el porcentaje de parasitación por especies P/PP se mantiene sin alcanzar diferencias estadísticas, apareciendo en un 34% de las heces de consistencia blanda y en un 27% de las heces de consistencia sólida.

Detallando las especies P/PP posibles responsables de la sintomatología y, por tanto, de la consistencia del material fecal, comentar que únicamente *A. lumbricoides* es la especie que está presente en la totalidad de heces de consistencia líquida. Estos resultados son comparables con los reportados por otros autores (Samie *et al.*, 2009; 2020) quienes en estudios realizados en Sudáfrica a pacientes con *G. duodenalis* encontraron que las heces líquidas presentaban porcentajes de infección más elevados (71,4%), y, por tanto, la presencia de heces líquidas podría indicar el impacto que causa la presencia de parásitos P/PP en el intestino. Sin embargo, otros autores informan que posterior a la realización de estudios de casos y controles en zonas endémicas, principalmente población infantil, no se asoció la diarrea con la presencia de *G. duodenalis* e incluso informan de un posible efecto protector del parásito contra la diarrea (Elmahallawy *et al.*, 2024). Vale la pena destacar que, en el presente estudio, las

3 especies más prevalentes involucradas en heces de consistencia líquida fueron *A. lumbricoides* (44%), *T. trichiura* (41%) y *Blastocystis* sp. (31%).

Sin embargo, un estudio previo (Perrucci *et al.*, 2020), intentando buscar la relación entre infección parasitaria por *G. duodenalis* y la consistencia del material fecal realizado en perros, no demostró diferencias significativas. Estos autores consideraron que el efecto de *G. duodenalis* en la consistencia del material fecal podría estar enmascarado por el estado inmunológico del hospedador, coincidiendo con lo reportado por otros autores quienes citan la aparición de la diarrea sólo en casos de primoinfección, seguido de una falta de síntomas conseguidos por alcanzar una posible inmunidad debida a la exposición continua al patógeno (Muñoz-Antoli *et al.*, 2011).

Otro estudio, también realizado en perros (Bayou, Terefe y Kusma, 2025), considera que la diarrea ocasionada por *G. duodenalis* está asociada con una mayor carga parasitaria. Esto sugeriría una posibilidad de que muchos de los menores de nuestro estudio que presentaban parásitos P/PP sin ninguna alteración del material fecal podrían contener una carga parasitaria baja. La ocurrencia de infección con *G. duodenalis* en pacientes asintomáticos no diarreicos es considerada normal (Brožová *et al.*, 2023). Sin embargo, cabe recordar que *G. duodenalis*, es reconocido como uno de los patógenos que mayor diarrea causa, también se asocia con otros efectos perjudiciales para el crecimiento y desarrollo infantil, como quedó reportado en un estudio previo (Bryan *et al.*, 2021).

En cuanto a la asociación de la infección con las vías de transmisión, el 94% de las infecciones se relacionan con la vía oral (agua/alimentos contaminados). Estos resultados concuerdan con estudios previos realizados en Nicaragua, donde el parasitismo se asocia con la vía oral de infección, ya que las deficientes condiciones de saneamiento obligan a conductas peligrosas, como beber agua contaminada del río que constituye la mayor fuente de infección principalmente para protistas (Muñoz-Antoli *et al.*, 2014; 2018b). En otros países cercanos, también se evidencia que el parasitismo se asocia principalmente con la ingesta de alimentos contaminados/agua no tratada (vía oral), debido a factores externos como la pobreza, falta de infraestructura y saneamiento deficiente (Mejía *et al.*, 2014; Naceanceno *et al.*, 2020). Además, en Colombia, se señala que la contaminación fecal del agua, es la fuente de infección más común de parásitos de origen animal y humano (Bryan *et al.*, 2021; Osorio-Pulgarin *et al.*, 2021). Estos datos recopilados en países de Latinoamérica, no se alejan mucho de los encontrados en estudios previos realizados en África donde también se evidenció que la transmisión de parásitos por esta vía oral es común en áreas con saneamiento deficiente (Samie *et al.*, 2020).

A pesar que la transmisión por vía oral es la forma mayoritaria de infección detectada en este trabajo, también se ha detectado transmisión por contacto directo (84%) y por contacto con suelo contaminado (36%). En la región del Pacífico, en ninguna de las 3 islas estudiadas, no se detecta diferencias estadísticamente significativas entre la infección por vía oral y la transmisión por contacto directo. Este resultado demuestra que condiciones de hacinamiento y deficientes medidas de higiene personal suponen también un factor favorable para la transmisión parasitaria en esta zona, junto con factores externos como la pobreza, falta de infraestructura y saneamiento deficiente (Mejía *et al.*, 2014; Naceanceno *et al.*, 2020), como se ha comentado anteriormente.

Sin embargo, en la región Caribe cabría añadir el elevado porcentaje de parasitación obtenido a partir de la contaminación fecal del suelo. Así, al tener en cuenta la asociación de la infección con la zona geográfica, llama la atención que solo en la región Caribe, la transmisión por el suelo de geohelminthos es 15 veces mayor a la presentada en la región Pacífico (91% y 6% respectivamente). Esta elevada prevalencia de geohelminthos característica en el Caribe nicaragüense podría deberse también a un reducido desarrollo de infraestructura sanitaria y menores condiciones higiénico-sanitarias saludables. Otro aspecto a tener en cuenta es que existe una falta de descripción precisa de la distribución geográfica de la infección que permita comprender la ecología y epidemiología de los helmintos, lo cual se convierte en un obstáculo a la hora de implementar acciones para el control de las geohelminthiasis (Brooker, Clements y Bundy, 2006), y poder enfocar las campañas según las condiciones y las necesidades específicas de cada población.

4.5- Limitaciones del estudio

A pesar del esfuerzo realizado en la presente Tesis Doctoral, al haber consistido en un estudio de tipo descriptivo y de corte transversal, con muestras de material fecal (recogidas desde el año 2020) de las distintas islas existentes en Nicaragua, el trabajo contiene una serie de limitaciones:

- Como la participación de la comunidad fue de manera voluntaria y, además, el acceso a las comunidades insulares resultó sumamente difícil debido a la poca infraestructura (falta de vías de acceso), por problemas relacionados con el orden público y, dada la negativa de los líderes comunitarios en la participación en este tipo de proyectos puesto que no perciben soluciones rápidas y definitivas a sus problemas, no se pudo alcanzar muestras en número representativo en cada una de las comunidades estudiadas (el total

de participantes en esta Tesis Doctoral fue de 918 menores), lo que impide la robustez de los resultados, que deben ser considerados como preliminares;

- La elección del fijador utilizado habitualmente en proyectos de este tipo (Formalina 10%) respondiendo al presupuesto económico, facilidad de transporte, menor toxicidad y mejor conservación de estructuras parasitarias, ha impedido aplicar estudios moleculares en todas las muestras estudiadas, por lo que los resultados de caracterización e identificación molecular obtenidos, deben ser considerados como preliminares;
- Como no se pudo reevaluar a los menores infectados, ya que, al tratarse de un estudio transversal, no fue posible volver a obtener más muestras fecales de los mismos participantes, lo que imposibilitó averiguar el tipo de parasitismo desarrollado por las esporas detectadas;
- El desconocimiento de la presencia de virus y/o bacterias y/o cualquier otro patógeno entérico de naturaleza bacteriana o vírica, ha podido tener efectos confundidores en la sintomatología reportada;
- Pese al completo formato de la encuesta con la que se ha trabajado, la incorrecta conservación de los documentos (hojas húmedas con respuestas borrosas) impidió considerar las diversas variables para la aplicación de análisis estadísticos multivariantes, por lo que no se pudo establecer correctamente los factores de riesgo asociado a la parasitación.

De cualquier forma, se ha podido cumplir el objetivo general del presente trabajo de unir esfuerzos que permitan mejorar la calidad de vida de la población infantil nicaragüense de comunidades insulares y mejorar el estado de salud de dichas poblaciones, puesto que todos los resultados derivados de este estudio, junto con material educativo de medidas de profilaxis, han sido compartidos con las instituciones sanitarias nicaragüenses. Así, gracias a la aplicación de técnicas de diagnóstico adecuado, se ha podido recomendar correctas medidas de control, prevención y tratamiento de las enteroparasitosis detectadas.

4.6.- Líneas de trabajo futuras

Este trabajo y los que de él resulten, abre las puertas para futuras investigaciones que integren estudios de índole molecular para conseguir entender la dinámica de transmisión de las parasitosis detectadas, así como, las peculiaridades en cada una de las regiones insulares del país.

Además, como los estudios epidemiológicos actuales se enfocan bajo un prisma de “USS”, se considera muy conveniente incluir en futuros estudios, además de muestras fecales humanas, muestras de origen animal y ambiental, de forma que se pueda llegar a obtener resultados sobre los reservorios animales y ambientales y sobre las posibles vías de transmisión de los parásitos detectados.

Nicaragua cuenta con estudios de la región Pacífico y de la región Caribe y, gracias a esta Tesis Doctoral, con datos de las comunidades insulares. Sin embargo, hay un desconocimiento total de toda la región central del país, de carácter inminentemente rural. Se trata de una región que incluye 7 departamentos (Nueva Segovia, Jinotega, Madriz, Estelí, Matagalpa, Boaco y Chontales) fundamentalmente dedicados al cultivo del café. Futuros estudios podrían diseñarse de forma que se abarcara el estudio paulatino de cada uno de dichos departamentos, incluyendo muestras de diferentes orígenes (“USS”) en condiciones para ser abarcadas a nivel molecular.

Gracias a los resultados obtenidos en este trabajo, evidenciando notables diferencias a nivel de parasitación intestinal entre las regiones del país, se podría abordar futuros estudios de contaminación ambiental del agua en aquellas zonas con mayores prevalencias de infección por protistas, y estudios de contaminación ambiental del suelo en aquellas zonas con mayores porcentajes de helmintos.

Además, gracias a la demostración en esta Tesis Doctoral de la utilidad de la técnica Mini-FLOTAC, se podría diseñar futuros estudios para la comparación válida de distintos métodos de diagnóstico, aplicando correctamente las pruebas estadísticas adecuadas para valorar la sensibilidad y especificidad.



Conclusiones

Conclusiones

Los hallazgos de esta Tesis Doctoral, en respuesta a los objetivos planteados que buscaban realizar un aporte al entendimiento de las infecciones parasitarias intestinales en población infantil de las regiones insulares de Nicaragua, han permitido extraer las siguientes conclusiones:

- A pesar del aislamiento geográfico que supone un ambiente insular, no se ha detectado reducción cualitativa del espectro parasitario en ninguna de las islas estudiadas, lo que evidencia el mantenimiento de la transmisión parasitaria, sobre todo en la distribución de protistas patógenos/potencialmente patógenos (P/PP), que resulta homogénea en todas las islas estudiadas. Este resultado podría orientar a que la infección fecal-oral por contaminación agua/hídrica sea la vía mayoritaria de infección en las islas estudiadas, resaltando la urgencia de mejorar el acceso a agua potable y saneamiento;
- La disparidad en los porcentajes de infección en ambas regiones (Pacífico 62,5% vs Caribe 88,2%) orienta hacia la variabilidad de factores externos no modificables (condiciones climáticas) y modificables (infraestructuras, campañas de desparasitación masiva, jornadas educativas de promoción de la salud) en distintas zonas del mismo país;
- A pesar de la drástica reducción de infección helmíntica en la región Pacífico, en ambas islas de la región Caribe se mantiene elevado el porcentaje de helmintos, lo que evidencia un éxito parcial en las campañas antihelmínticas y la difícil aplicación, distribución y mantenimiento, en las zonas más alejadas y rurales, tanto de campañas informativas para evitar la infección, como de tratamientos antihelmínticos masivos;
- Se confirma el predominio de la especie *T. trichiura* sobre *A. lumbricoides*, quizá indicativo de unas favorables condiciones ambientales de humedad y unas medidas antihelmínticas menos eficaces. Además, las altas prevalencias y la detección de infecciones de tipo de intensidad moderada para *T. trichiura* y *A. lumbricoides* en las islas caribeñas podrían reflejar procesos de reinfección y exposición continua a ambientes insalubres, así como evidenciar que dichos geohelminthos siguen significando un problema de salud pública en esa región del país;
- A pesar que ambos sexos y todos los grupos de edad se ven afectados de igual manera por la parasitación, el sexo masculino y el grupo de edad de 12-14 años son los que presentan los porcentajes más elevados en todas las islas estudiadas, tanto de protistas como de helmintos, probablemente por mayor autonomía y exposición a riesgos ambientales;

- El multiparasitismo que aparece como la forma mayoritaria de infección, en el archipiélago de Solentiname, en la región Pacífico y en ambas islas de la región caribeña, podría considerarse como un indicador indirecto de privación social y ambiental;
- Aunque se trate de unos resultados de tipo preliminar, la detección de ST7 de *Blastocystis* sp., podría ser indicativo de un evento puntual de transmisión zoonótica, si bien, la dominancia del sub-ensamblaje BIII de *G. duodenalis* inclina a una infección de tipo antroponótico mayoritaria en la isla de Corinto, apoyado por la identificación de *Cryptosporidium hominis*;
- Se demuestra la recomendación de incorporar técnicas de diagnóstico molecular en estudios epidemiológicos en los que sólo se disponga de una muestra fecal por participante, para desvelar las vías de transmisión, para reducir los falsos negativos (como en el caso de *C. hominis*), para descartar patogenicidad (como en el caso de *E. dispar*), incluso para llegar a identificar específicamente los parásitos en tránsito (como las esporas de *Myxobolus* sp. y de *Henneguya* sp. detectadas), reforzando la idea de estudios bajo el enfoque USS;
- Aunque se desconoce la presencia de virus y/o bacterias, que podrían confundir los resultados, una vez más, se demuestra que la infección por especies parásitas intestinales en zonas endémicas no se asocia con sintomatología intestinal evidente, si bien, si se evidencia un impacto negativo de *A. lumbricoides* a nivel intestinal, por su aparición en todas las heces de consistencia líquida;
- La técnica de Mini-FLOTAC, puede considerarse como una alternativa válida para el recuento de huevos y poder determinar la intensidad de parasitación por geohelminths, sobre todo cuando la complejidad de la zona para realizar el trabajo de campo requiera de una fijación obligatoria de las muestras fecales.



Bibliografía

Bibliografía

A

Agudelo-Lopez, S., Gómez-Rodríguez, L., Coronado, X., Orozco, A., Valencia-Gutiérrez, C. A., Restrepo-Betancur, L. F., Galvis-Gómez, L. A., & Botero-Palacio, L. E. (2008). Prevalencia de parasitosis intestinales y factores asociados en un corregimiento de la Costa Atlántica Colombiana. *Revista de Salud Pública*, 10(4). <https://doi.org/10.1590/S0124-00642008000400013>.

Akdur Öztürk, E., Guadano-Procesi, I., Figueiredo, A. M., Godfrey, A., Gentekaki, E., Tsaousis, A. D., Carmena, D., & Dogruman-AI, F. (2025). A protocol for mapping *Blastocystis* epidemiology and diagnostics from One Health perspective. *Open Research Europe*, 5, 133. <https://doi.org/10.12688/openreseurope.20151.1>.

Appelbee, A. J., Frederick, L. M., Heitman, T. L., & Olson, M. E. (2003). Prevalence and genotyping of *Giardia duodenalis* from beef calves in Alberta, Canada. *Veterinary Parasitology*, 112(4), 289–294. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00422-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00422-3).

Ávalos, G., Caballero-Gómez, J., Matas-Méndez, P., Castro-Scholten, S., Jiménez-Martín, D., Köster, P. C., Santín, M., Bailo, B., Cano-Terriza, D., González-Barrio, D., Mateo, M., García-Bocanegra, I., Dashti, A., Nájera, F., & Carmena, D. (2024). Detection and genotyping of zoonotic microsporidia in the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Medical Mycology*, 62(4). <https://doi.org/10.1093/mmy/myae027>.

B

Bahrami, F., Babaei, E., Badirzadeh, A., Riabi, T. R., & Abdoli, A. (2020). *Blastocystis*, urticaria, and skin disorders: review of the current evidences. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 39(6), 1027–1042. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03793-8>.

Barda, B., Cajal, P., Villagran, E., Cimino, R., Juarez, M., Krolewiecki, A., Rinaldi, L., Cringoli, G., Burioni, R., & Albonico, M. (2014). Mini-FLOTAC, Kato-Katz and McMaster: three methods, one goal; highlights from north Argentina. *Parasites & Vectors*, 7(1), 271. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-271>.

- Barda, B. D., Rinaldi, L., Ianniello, D., Zepherine, H., Salvo, F., Sadutshang, T., Cringoli, G., Clementi, M., & Albonico, M. (2013).** Mini-FLOTAC, an innovative direct diagnostic technique for intestinal parasitic infections: experience from the field. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(8), e2344. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002344>.
- Basualdo, J. A., Córdoba, M. A., Luca, M. M. de, Ciarmela, M. L., Pezzani, B. C., Grenovero, M. S., & Minvielle, M. C. (2007).** Intestinal parasitoses and environmental factors in a rural population of Argentina, 2002-2003. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 49(4), 251–255. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652007000400011>.
- Bayou, K., Terefe, G., & Kumsa, B. (2025).** Epidemiology of gastrointestinal parasites of dogs in four districts of central Ethiopia: prevalence and risk factors. *PLoS ONE*, 20(1), e0316539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0316539>.
- Becker, S. L., Lohourignon, L. K., Speich, B., Rinaldi, L., Knopp, S., N’Goran, E. K., Cringoli, G., & Utzinger, J. (2011).** Comparison of the Flotac-400 Dual Technique and the Formalin-Ether Concentration Technique for Diagnosis of Human Intestinal Protistan Infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(6), 2183–2190. <https://doi.org/10.1128/JCM.01035-10>.
- Becker-Dreps, S., Allali, I., Monteagudo, A., Vilchez, S., Hudgens, M. G., Rogawski, E. T., Carroll, I. M., Zambrana, L. E., Espinoza, F., & Azcarate-Peril, M. A. (2015).** Gut microbiome composition in young nicaraguan children during diarrhea episodes and recovery. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 93(6), 1187–1193. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0322>.
- Berkman, D. S., Lescano, A. G., Gilman, R. H., Lopez, S. L., & Black, M. M. (2002).** Effects of stunting, diarrhoeal disease, and parasitic infection during infancy on cognition in late childhood: a follow-up study. *The Lancet*, 359(9306), 564–571. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)07744-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)07744-9).
- Betancourth, S., Archaga, O., Moncada, W., Rodríguez, V., & Fontecha, G. (2021).** First molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in patients living with HIV in honduras. *Pathogens*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/pathogens10030336>.
- 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(9521), 1521–1532. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68653-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68653-4).

Blessmann, J., Ali, I. K. M., Nu, P. A. T., Dinh, B. T., Viet, T. Q. N., Van, A. le, Clark, C. G., & Tannich, E. (2003). Longitudinal study of intestinal *Entamoeba histolytica* infections in asymptomatic adult carriers. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(10), 4745–4750. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.10.4745-4750.2003>.

Boreham, R. E., Hendrick, S., O'donoghue, P. J., & Stenzel, D. J. (1998). Incidental finding of *Myxobolus* Spores (Protozoa: Myxozoa) in stool samples from patients with gastrointestinal symptoms. In *Journal Of Clinical Microbiology* (Vol. 36, Issue 12).

Bradbury, R. S., Barbe, B., Jacobs, J., Jallow, A. T., Camara, K. C., Colley, M., Wegmüller, R., Jassey, B., Cham, Y., Baldeh, I., & Prenticea, A. (2015). Enteric pathogens of food sellers in rural Gambia with incidental finding of *Myxobolus* species (Protozoa: Myxozoa). *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 109(5), 334–339. <https://doi.org/10.1093/trstmh/trv020>.

Brooker, S., Clements, A. C. A., & Bundy, D. A. P. (2006). Global Epidemiology, ecology and control of soil-transmitted helminth Infections. *Advances in Parasitology*, 62, 221–261. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)62007-6](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)62007-6).

Brožová, K., Jirků, M., Lhotská, Z., Květoňová, D., Kadlecová, O., Stensvold, C. R., Samaš, P., Petrželková, K. J., & Jirků, K. (2023). The opportunistic protist, *Giardia intestinalis*, occurs in gut-healthy humans in a high-income country. *Emerging Microbes & Infections*, 12(2), 2270077. <https://doi.org/10.1080/22221751.2023.2270077>.

Bryan, P. E., Romero, M., Sánchez, M., Torres, G., Gómez, W., Restrepo, M., Restrepo, A., & Mejia, R. (2021). Urban versus Rural prevalence of intestinal parasites using Multi-Parallel qPCR in Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 104(3), 907–909. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-1202>.

Buckholt, M. A., Lee, J. H., & Tzipori, S. (2002). Prevalence of *Enterocytozoon bieneusi* in swine: An 18-month survey at a slaughterhouse in Massachusetts. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(5), 2595–2599. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2595-2599.2002>.

C

Cacciò, S. M., de Giacomo, M., & Pozio, E. (2002). Sequence analysis of the β -giardin gene and development of a polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism assay to genotype *Giardiaduodenalis* cysts from human faecal samples. *International Journal for Parasitology*, 32(8), 1023–1030. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(02\)00068-1](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(02)00068-1).

Cai, W., Ryan, U., Xiao, L., & Feng, Y. (2021). Zoonotic giardiasis: an update. In *Parasitology Research*, 120 (12), 4199–4218). <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07325-2>.

Calegar, D. A., Nunes, B. C., Monteiro, K. J. L., dos Santos, J. P., Toma, H. K., Gomes, T. F., Lima, M. M., Bóia, M. N., & Carvalho-Costa, F. A. (2016). Frequency and molecular characterisation of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, and *Entamoeba hartmanni* in the context of water scarcity in northeastern Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(2), 114–119. <https://doi.org/10.1590/0074-02760150383>.

Carmena, D., Cardona, G. A., Sánchez-Serrano, L. P. (2012). Current situation of *Giardia* infection in Spain: Implications for public health. *World Journal of Clinical Infectious Diseases*, 2(1), 1-12. <https://doi.org/10.5495/wjcid.v2.i1.1>.

Carvalho-Costa, F. A., Gonçalves, A. Q., Lassance, S. L., da Silva Neto, L. M., Salmazo, C. A. 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 Sao Paulo*, 49(3), 147–153. <https://doi.org/10.1590/s0036-46652007000300003>.

Cañete, R., Díaz, M. M., Avalos García, R., Laúd Martinez, P. M., & Manuel Ponce, F. (2012). Intestinal parasites in children from a Day Care Centre in Matanzas City, Cuba. *PLoS ONE*, 7(12), e51394. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051394>.

Cavuoti, D., & Lancaster, K. R. (1992). Intestinal parasitism of children on Corn Island, Nicaragua. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 11(9), 775–776.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC): DPDx- Laboratory identification of parasites of public health concern (2024). Trichuriasis. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/trichuriasis/index.html>.

Chammartin, F., Scholte, R. G., Guimarães, L. H., Tanner, M., Utzinger, J., & Vounatsou, P. (2013). Soil-transmitted helminth infection in South America: a systematic review and geostatistical meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(6), 507–518. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70071-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70071-9).

Chege, N. M., Ondigo, B. N., Onyambu, F. G., Kattam, A. M., Lagat, N., Irungu, T., & Matey, E. J. (2020). The prevalence of intestinal parasites and associated risk factors in school-going children from informal settlements in Nakuru town, Kenya. *Malawi Medical Journal: The Journal of Medical Association of Malawi*, 32(2), 80–86. <https://doi.org/10.4314/mmj.v32i2.5>.

Chozas, M., Dashti, A., Prieto-Pérez, L., Pérez-Tanoira, R., Cobo, E., Bailo, B., del Palacio, M., Hernández-Castro, C., González-Barrio, D., Carmena, D., & Köster, P. C. (2023). *Enterocytozoon bienewi* and *Encephalitozoon intestinalis* (microsporidia) in HIV-positive patients in central Spain. *Medical Mycology*, 61(4), myad039. <https://doi.org/10.1093/mmy/myad039>.

Clark, C. G., van der Giezen, M., Alfellani, M. A., & Stensvold, C. R. (2013). Recent developments in *Blastocystis* research. *Advances in Parasitology*, 82, 1–32. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407706-5.00001-0>.

Cociancic, P., Zonta, M. L., & Navone, G. T. (2018). A cross-sectional study of intestinal parasitoses in dogs and children of the periurban area of La Plata (Buenos Aires, Argentina): zoonotic importance and implications in public health. *Zoonoses and Public Health*, 65(1). <https://doi.org/10.1111/zph.12408>.

Cringoli, G., Rinaldi, L., Maurelli, M. P., & Utzinger, J. (2010). FLOTAC: New multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nature Protocols*, 5(3), 503–515. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.235>.

Cruz, J. R., Cano, F., Càceres, P., Chew, F., & Pareja, G. (1988). Infection and diarrhea caused by *Cryptosporidium* sp. among Guatemalan Infants. In *Journal of Clinical Microbiology* 26(1), 88-91. <https://journals.asm.org/journal/jcm.26.1.88-91.1988>.

D

de Lucio, A., Merino, F. J., Martínez-Ruiz, R., Bailo, B., Aguilera, M., Fuentes, I., & Carmena, D. (2016). Molecular genotyping and sub-genotyping of *Cryptosporidium* spp. isolates from symptomatic individuals attending two major public hospitals in Madrid, Spain. *Infection, Genetics and Evolution*, 37, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.10.026>.

Devera, R., Blanco, Y., Amaya, I., Nastasi Miranda, J., Rojas, G., & Vargas, B. (2014). Parásitos intestinales en habitantes de la comunidad rural La Canoa, estado Anzoátegui, Venezuela. *Revista Venezolana de Salud Pública*, 2, 15–21.

Diamond, L. S., & Clark, C. G. (1993). A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (Emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 40(3), 340–344. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1993.tb04926.x>.

Diaz Michael R., Irish Jasmine, Belay Zena, Davlin Stacy, Jones Alexander, & Intiaz Rubina. (2021). Qualitative systematic literature review of global soil-transmitted helminthiasis prevalence and intensity studies. *Children Without Worms*.

Dib, J., Oquilla, J., Lazarte, S. G., & Gonzalez, S. N. (2012). Parasitic prevalence in a suburban school of Famaillá, Tucumán, Argentina. *ISRN Microbiology*, 2012, 1–4. <https://doi.org/10.5402/2012/560376>.

dos Santos, C. R., Amendoeira, M. R. R., Dib, L. V., Corrêa, L. L., & da Silva Barbosa, A. (2025). *Entamoeba* sp. in a city in the Amazon interior in Brazil: microscopic parasitological, immunological, and molecular diagnosis. *Parasite Epidemiology and Control*, 29, e00424. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.parepi.2025.e00424>.

dos Reis, L. L., de Jesus, L. C., Fernandes, O. C. C., & Barroso, D. E. (2019). First report of *Myxobolus* (Cnidaria: Myxozoa) spores in human feces in Brazil. *Acta Amazonica*, 49(2), 162–165. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201802671>.

E

Elmahallawy, E. K., Gareh, A., Ghallab, M. M. I., Köster, P. C., Dashti, A., Aboelsoued, D., Toaleb, N. I., Alzaylaee, H., González, M., Saleh, A. A., Alhegaili, A. S., Eldehn, A. F., Hernández-Castro, C., Bailo, B., González-Barrio, D., & Carmena, D. (2024). Microscopy detection and molecular characterisation of *Giardia duodenalis* infection in outpatients seeking medical care in Egypt. *Frontiers in Public Health*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1377123>.

Espinosa Morales, M., Javiqué, M., & Socarrás, A. (2011). Parasitosis intestinal, su relación con factores ambientales en niños del sector “Altos de Milagro”, Maracaibo. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 27, 396–405.

F

FAO (2009). Cultured Aquatic Species Fact Sheets. https://www.fao.org/fishery/docs/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_niletilapia.htm

Fedorko, D. P., Nelson, N. A., & Cartwright, C. P. (1995). Identification of microsporidia in stool specimens by using PCR and restriction endonucleases. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(7), 1739–1741. <https://doi.org/10.1128/jcm.33.7.1739-1741.1995>.

- Feltus, D. C., Giddings, C. W., Schneck, B. L., Monson, T., Warshauer, D., & McEvoy, J. M. (2006).** Evidence supporting zoonotic transmission of *Cryptosporidium* spp. in Wisconsin. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(12), 4303–4308. <https://doi.org/10.1128/JCM.01067-06>.
- Feng, Y., & Xiao, L. (2011).** Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(1), 110–140. <https://doi.org/10.1128/CMR.00033-10>
- Fernández-Niño, J. A., Astudillo-García, C. I., Segura, L. M., Gómez, N., Salazar, A. S., Tabares, J. H., Restrepo, C. A., Ruiz, M. A., López, M. C., & Reyes, P. (2017).** Profiles of intestinal polyparasitism in a community of the Colombian Amazon region. *Biomédica*, 37(3), 368. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i3.3395>.
- Fernández-Palacios J. M. & Morici C. (2004).** Introducción a las islas. In Asociación Española de Ecología Terrestre (AEET)-Cabildo Insular de La Palma (Ed.), *Ecología insular* (pp. 21–55).
- Figueiredo, A. M., Shaw, D., Tunali, V., Gentekaki, E., Tsaousis, A. D., & Carmena, D. (2025).** Update on *Blastocystis*: highlights from the Fourth International *Blastocystis* Conference. *Open Research Europe*, 5, 11. <https://doi.org/10.12688/openreseurope.19168.1>.
- Fotedar, R., Stark, D., Beebe, N., Marriott, D., Ellis, J., & Harkness, J. (2007a).** PCR detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, and *Entamoeba moshkovskii* in stool samples from Sydney, Australia. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(3), 1035–1037. <https://doi.org/10.1128/JCM.02144-06>.
- Fotedar, R., Stark, D., Beebe, N., Marriott, D., Ellis, J., & Harkness, J. (2007b).** Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(3), 511–532. <https://doi.org/10.1128/CMR.00004-07>.
- Freeman, M. C., Ogden, S., Jacobson, J., Abbott, D., Addiss, D. G., Amnie, A. G., Beckwith, C., Cairncross, S., Callejas, R., Colford, J. M., Emerson, P. M., Fenwick, A., Fishman, R., Gallo, K., Grimes, J., Karapetyan, G., Keene, B., Lammie, P. J., MacArthur, C., ... Utzinger, J. (2013).** Integration of Water, Sanitation, and Hygiene for the prevention and control of Neglected Tropical Diseases: a rationale for inter-sectoral collaboration. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(9), e2439. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002439>.

Fusaro, C., Bernal, J. E., Baldiris-Ávila, R., González-Cuello, R., Cisneros-Lorduy, J., Reales-Ruiz, A., Castro-Orozco, R., & Sarria-Guzmán, Y. (2024). Molecular prevalence and subtypes distribution of *Blastocystis* spp. in humans of Latin America: a systematic review. *Tropical Medicine and Infectious Disease* 9(2), 38. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed9020038>.

G

Gabrie, J. A., Rueda, M. M., Rodríguez, C. A., Canales, M., & Sanchez, A. L. (2016). Immune Profile of Honduran Schoolchildren with Intestinal Parasites: the Skewed Response against Geohelminths. *Journal of Parasitology Research*, 2016, 1769585. <https://doi.org/10.1155/2016/1769585>.

Galvan-Diaz, A. L., Bedoya-Urrego, K., Medina-Lozano, A., Uran-Velasquez, J., Alzate, J. F., & Garcia-Montoya, G. (2020). Common occurrence of *Cryptosporidium hominis* in children attending day-care centers in Medellín, Colombia. *Parasitology Research*, 119(9):2935-2942. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06782-5>.

Gamboa, M. I., Kozubsky, L. E., Costas, M. E., Garraza, M., Cardozo, M. I., Susevich, M. L., Magistrello, P. N., & Navone, G. T. (2009). Asociación entre geohelminthos y condiciones socioambientales en diferentes poblaciones humanas de Argentina. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 26(1). <https://doi.org/10.1590/S1020-49892009000700001>.

Gamboa, M. I., Navone, G. T., Orden, A. B., Torres, M. F., Castro, L. E., & Oyhenart, E. E. (2011). Socio-environmental conditions, intestinal parasitic infections and nutritional status in children from a suburban neighborhood of La Plata, Argentina. *Acta Tropica*, 118(3), 184–189. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.06.015>.

Garbossa, G., Pía Buyayisqui, M., Geffner, L., López Arias, L., de la Fournière, S., Haedo, A. S., Marconi, A. E., Frid, J. C., Nesse, A. B., & Bordoni, N. (2013). Social and environmental health determinants and their relationship with parasitic diseases in asymptomatic children from a shantytown in Buenos Aires, Argentina. *Pathogens and Global Health*, 107(3), 141–152. <https://doi.org/10.1179/2047773213Y.0000000087>.

Gonzales, M. L. M., Dans, L. F., & Sio-Aguilar, J. (2019). Antiamoebic drugs for treating amoebic colitis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1(1), CD006085. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006085.pub3>.

Gozalbo, M. M., Pavón A, Toledo R, Muñoz-Antolí C, & Esteban J.G. (2021). Epidemiological study of Intestinal parasitism in the child population of department of Managua (Nicaragua). *International Journal of Clinical Studies and Medical Case Reports*, 14(5). <https://doi.org/10.46998/IJCMCR.2021.14.000346>.

Gutiérrez, L., & Bartelt, L. (2024). Current understanding of *Giardia lamblia* and pathogenesis of stunting and cognitive deficits in children from low- and middle-income countries. In *Current Tropical Medicine Reports*, 11, (1), 28–39. <https://doi.org/10.1007/s40475-024-00314-2>.

Gutiérrez, L., Vielot, N. A., Herrera, R., Reyes, Y., Toval-Ruiz, C., Blandón, P., Rubinstein, R. J., Mora, J., Bartelt, L. A., Bucardo, F., Becker-Dreps, S., & Vilchez, S. (2024). *Giardia lamblia* risk factors and burden in children with acute gastroenteritis in a Nicaraguan birth cohort. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 18(11), e0012230. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012230>.

Gutiérrez-Cisneros, M. J., Cogollos, R., López-Vélez, R., Martín-Rabadá, P., Martínez-Ruiz, R., Subirats, M., Merino, F. J., & Fuentes, I. (2010). Application of real-time PCR for the differentiation of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* in cyst-positive faecal samples from 130 immigrants living in Spain. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 104(2), 145–149. <https://doi.org/10.1179/136485910X12607012373759>.

H

Henriksen, S. A., & Pohlenz, J. F. (1981). Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 22 (3-4), 594-596. <https://doi.org/10.1186/BF03548684>.

Hernández, P. C., Morales, L., Chaparro-Olaya, J., Sarmiento, D., Jaramillo, J. F., Ordoñez, G. A., Cortés, F., & Sánchez, L. K. (2019). Intestinal parasitic infections and associated factors in children of three rural schools in Colombia. A cross-sectional study. *PLoS ONE*, 14(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218681>.

Herbinger, K.-H., Fleischmann, E., Weber, C., Perona, P., Löschner, T., & Bretzel, G. (2011). Epidemiological, clinical, and diagnostic data on intestinal infections with *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* among returning travelers. *Infection*, 39(6), 527–535. <https://doi.org/10.1007/s15010-011-0155-z>.

Hernández-Castro, C., Dashti, A., Vusirikala, A., Balasegaram, S., Köster, P. C., Bailo, B., Imaña, E., López, A., Llorente, M. T., González-Barrio, D., Sánchez, S., & Carmena, D. (2023). Prevalence and temporal dynamics of *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, and *Blastocystis* sp. among toddlers attending day-care centres in Spain. A prospective molecular-based longitudinal study. *European Journal of Pediatrics*, 182(1), 213–223. <https://doi.org/10.1007/s00431-022-04662-x>.

Hernández-Castro, C., Maloney, J. G., Agudelo-López, S. P., Toro-Londoño, M. A., Botero-Garcés, J. H., Orozco, M. C., Quintero-Quinchia, Y. C., Correa-Cote, J. C., Múnera-Duque, A., Ricaurte-Ciro, J. C., Londoño-Álvarez, L. I., Escobar, R. M., Köster, P. C., Sánchez, S., Carmena, D., & Santín, M. (2023). Identification and validation of novel *Blastocystis* subtype ST41 in a Colombian patient undergoing colorectal cancer screening. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 70(5), e12978. <https://doi.org/10.1111/jeu.12978>.

Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2007). *Fundamentos de la metodología de la investigación*. Madrid: Mcgraw-hill Interamericana de España.

Hotez, P. J., Woc-Colburn, L., & Bottazzi, M. E. (2014). Neglected tropical diseases in Central America and Panama: review of their prevalence, populations at risk and impact on regional development. *International Journal for Parasitology*, 44(9), 597–603. <https://doi.org/10.1016/J.IJPARA.2014.04.001>.

Hotez, P. J., Bottazzi, M. E., Strych, U., Chang, L.-Y., Lim, Y. A. L., Goodenow, M. M., & AbuBakar, S. (2015). Neglected tropical diseases among the Association of Southeast Asian Nations (ASEAN): overview and update. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(4), e0003575. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003575>.

Hublin, J. S. Y., Maloney, J. G., & Santin, M. (2021). *Blastocystis* in domesticated and wild mammals and birds. In *Research in Veterinary Science*, 135, 260–282. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.09.031>.

I

Ihnacik, L., Šmigová, J., Šoltys, J., Bobíková, D., Kuzevičová, Ž., Kuzevič, Š., Schusterová, I., & Papajová, I. (2022). The survey of soil-transmitted helminth species abundance in Slovakia with an emphasis on parameters important for their distribution. *Frontiers in Medicine*, 9, 1043313. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.1043313>.

Instituto Nacional de Estadísticas y Censos de Nicaragua (INEC) (2023). Disponible en: <https://www.citypopulation.de/en/nicaragua/admin/>.

J

Jiménez, P. A., Jaimes, J. E., & Ramírez, J. D. (2019). A summary of *Blastocystis* subtypes in North and South America. In *Parasites and Vectors*, 12, (1),376. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3641-2>.

Jinatham, V., Maxamhud, S., Popluechai, S., Tsaousis, A. D., & Gentekaki, E. (2021). *Blastocystis* One Health Approach in a rural community of Northern Thailand: prevalence, subtypes and novel transmission routes. *Frontiers in Microbiology*, 12, 746340. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.746340>.

K

Karan, A., Chapman, G. B., & Galvani, A. (2012). The influence of poverty and culture on the transmission of parasitic infections in rural nicaraguan villages. *Journal of Parasitology Research*, 2012, 478292. <https://doi.org/10.1155/2012/478292>.

Katz, N., Chaves, A., & Pellegrino, J. (1972). A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Revista do Instituto Medicina Tropical de Sao Paulo*, 14(6), 397-400.

Kebede, A., Verweij, J. J., Endeshaw, T., Messele, T., Tasew, G., Petros, B., & Polderman, A. M. (2004). The use of real-time PCR to identify *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* infections in prisoners and primary-school children in Ethiopia. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 98(1), 43–48. <https://doi.org/10.1179/000349804225003082>.

Koehler, A. v., Herath, H. M. P. D., Hall, R. S., Wilcox, S., & Gasser, R. B. (2024). Marked genetic diversity within *Blastocystis* in Australian wildlife revealed using a next generation sequencing–phylogenetic approach. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 23. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2023.100902>.

Koh, W. H., Geurden, T., Paget, T., O’Handley, R., Steuart, R. F., Thompson, R. C. A., & Buret, A. G. (2013). *Giardia duodenalis* assemblage-specific induction of apoptosis and tight junction disruption in human intestinal epithelial cells: effects of mixed infections. *The Journal of Parasitology*, 99(2), 353–358. <https://doi.org/10.1645/GE-3021.1>.

Korpe, P. S. (2021). The Silent Reservoir of Cryptosporidiosis. In *Clinical Infectious Diseases*, 72(8), 1367–1368) <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa228>.

Kotloff, K. L., Nataro, J. P., Blackwelder, W. C., Nasrin, D., Farag, T. H., Panchalingam, S., Wu, Y., Sow, S. O., Sur, D., Breiman, R. F., Faruque, A. S. G., Zaidi, A. K. M., Saha, D., Alonso, P. L., Tamboura, B., Sanogo, D., Onwuchekwa, U., Manna, B., Ramamurthy, T., Levine, M. M. (2013). Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): A prospective, case-control study. *The Lancet*, 382(9888), 209–222. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60844-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60844-2).

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>.

L

Lacoste Laugart, E., Rosado García, F. M., Ángel Núñez, F., Rodríguez Peña, M. S., Medina Fundora, I. C., & Suárez Medina, R. (2012). Aspectos epidemiológicos de las parasitosis intestinales en niños de Vegón de Nutrias, Venezuela. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 50(3), 330–339.

Lal, A., Baker, M. G., Hales, S., & French, N. P. (2013). Potential effects of global environmental changes on cryptosporidiosis and giardiasis transmission. *Trends in Parasitology*, 29(2), 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2012.10.005>.

Lalle, M., Pozio, E., Capelli, G., Bruschi, F., Crotti, D., & Cacciò, S. M. (2005). Genetic heterogeneity at the β -giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *International Journal for Parasitology*, 35(2), 207–213. <https://doi.org/10.1016/J.IJPARA.2004.10.022>.

Lebbad, M., Ankarklev, J., Tellez, A., Leiva, B., Andersson, J. O., & Svärd, S. (2008). Dominance of *Giardia* assemblage B in León, Nicaragua. *Acta Tropica*, 106(1), 44–53. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2008.01.004>.

Legua, P., & Seas, C. (2013). *Cystoisospora* and *Cyclospora*. In *Current Opinion in Infectious Diseases*, 26(5), 479–483. <https://doi.org/10.1097/01.qco.0000433320.90241.60>.

Leiva, B., Lebbad, M., Winiecka-Krusnell, J., Altamirano, I., Tellez, A., & Linder, E. (2006). Overdiagnosis of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in Nicaragua: A microscopic, triage parasite panel and PCR Study. Archives of Medical Research, 37(4), 529–534. <https://doi.org/10.1016/J.ARCMED.2005.10.009>.

Lustigman, S., Prichard, R. K., Gazzinelli, A., Grant, W. N., Boatín, B. A., McCarthy, J. S., & Basáñez, M.-G. (2012). A Research Agenda for helminth diseases of humans: The problem of helminthiasis. PLoS Neglected Tropical Diseases, 6(4), e1582. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001582>.

M

Macchioni, F., Segundo, H., Gabrielli, S., Totino, V., Gonzales, P. R., Salazar, E., Bozo, R., Bartoloni, A., & Cancrini, G. (2015). Dramatic decrease in prevalence of soil-transmitted helminths and new insights into intestinal protozoa in children living in the Chaco Region, Bolivia. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 92(4), 794-796. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0039>.

Magalhães, A. R., Codeço, C. T., Svenning, J. C., Escobar, L. E., van de Vuurst, P., & Gonçalves-Souza, T. (2023). Neglected tropical diseases risk correlates with poverty and early ecosystem destruction. Infectious Diseases of Poverty, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s40249-023-01084-1>.

Manterola, C., Rivadeneira, J., Leal, P., Rojas-Pincheira, C., & Altamirano, A. (2024). One Health. A multisectoral and transdisciplinary health approach. International Journal of Morphology 42(3):779-786. <https://doi.org/10.4067/s0717-95022024000300779>.

Martinez Vaca W.L. (2003). Estadística Descriptiva con énfasis en Salud Pública. Editoria Hoguera, España.

Matovelle, C., Tejedor, M. T., Monteagudo, L. V., Beltrán, A., & Quílez, J. (2022). Prevalence and associated factors of *Blastocystis* sp. infection in patients with gastrointestinal symptoms in Spain: a case-control study. Tropical Medicine and Infectious Disease, 7(9). <https://doi.org/10.3390/tropicalmed7090226>.

Mcclelland, R. S., Murphy, D. M., & Cone, D. K. (1997). Report of spores of *Henneguya salminicola* (Myxozoa) in human stool specimens: Possible source of confusion with human spermatozoa. In Journal Of Clinical. 35(11):2815-2818. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.11.2815-2818.1997>.

Medina Lozano, A., García Montoya, G., Galván Díaz, A. L., & Botero Garcés, J. (2009). Prevalencia de parásitos intestinales en niños que asisten al Templo Comedor Sagrado Corazón Teresa Benedicta de la Cruz, del barrio Vallejuelos, Medellín, 2007. *Iatreia*, 22(3), 227-234.

Mejia Torres, R. E., Franco Garcia, D. N., Adolfo, G., Sandoval, F., Santana, A. H., Singh, P., Tamara, S., Bucheli, M., Saboya, M., & Paz, M. Y. (2014). Prevalence and intensity of soil-transmitted helminthiasis, prevalence of malaria and nutritional status of school going children in Honduras. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10, e3248. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003248>.

Moncada, L. I., López, M. C., Murcia, M. I., Nicholls, S., León, F., Lucia Guio, O., & Corredor, A. (2001). *Myxobolus* sp., Another opportunistic parasite in immunosuppressed patients? *Journal of Clinical Microbiology*, 39(5), 1938–1940. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.5.1938-1940.2001>.

Montresor, A., Crompton, D. W. T., Bundy, D. A. P., Hall, A., & Savioli, L. (1998). Guidelines for the evaluation of soil-transmitted helminthiasis and schistosomiasis at community level: a guide for managers of control programmes. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 92(4), 470–471. [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(98\)91101-4](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(98)91101-4).

Morán, P., Rojas, L., Cerritos, R., Zermeño, V., Valadez, A., de Oca, G. M., Reyes, M. Á., González, E., Partida, O., Hernández, E., Nieves, M., Portillo, T., Gudiño, M., Ramiro, M., & Ximénez, C. (2013). Cutaneous amebiasis: the importance of molecular diagnosis of an emerging parasitic disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(1), 186–190. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0278>.

Moser, W., Schindler, C., & Keiser, J. (2017). Efficacy of recommended drugs against soil transmitted helminths: systematic review and network meta-analysis. *BMJ*, 358, j4307. <https://doi.org/10.1136/bmj.j4307>.

Muñoz-Antoli, C., Gozalbo, M., Pavón, A., Pérez, P., Toledo, R., & Esteban, J. G. (2018a). Enteroparasites in preschool children on the pacific region of Nicaragua. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 98(2), 570–575. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0551>.

Muñoz-Antoli, C., Pavón, A., Comas, J., Toledo, R., & Esteban, J. G. (2024). Presence of intestinal parasites in patients with chronic non-communicable diseases in Masaya (Nicaragua). *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/tropicalmed9080171>.

- Muñoz-Antoli, C., Pavón, A., Marcilla, A., Toledo, R., & Esteban, J. G. (2011).** Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* in schoolchildren from department of Rio San Juan (Nicaragua). *Tropical Biomedicine*, 28(1), 40–47.
- Muñoz-Antoli, C., Pavón, 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(12), 774–782. <https://doi.org/10.1093/trstmh/tru160>.
- Muñoz-Antoli, C., Pavón, A., Pérez, P., Toledo, R., & Esteban, J. G. (2017).** Soil-transmitted helminth infections in schoolchildren of Laguna de Perlas (Nicaragua). *Journal of Tropical Pediatrics*, 63(2), 124–134. <https://doi.org/10.1093/tropej/fmw061>.
- Muñoz-Antoli, C., Pérez, P., Pavón, A., Toledo, R., & Esteban, J. G. (2018b).** Soil-transmitted helminth infections and anemia in schoolchildren from Corn Island archipelago (RAAS, Nicaragua). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 99(6), 1591–1597. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0195>.
- Muñoz-Antoli, C., Pérez, P., Pavón, A., Toledo, R., & Esteban, J. G. (2022).** High intestinal parasite infection detected in children from Región Autónoma Atlántico Norte (R.A.A.N.) of Nicaragua. *Scientific Reports*, 12(1), 5872. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09756-y>.

N

- Nabarro, L. E. B., Lever, R. A., Armstrong, M., & Chiodini, P. L. (2015).** Increased incidence of nitroimidazole-refractory giardiasis at the Hospital for Tropical Diseases, London: 2008-2013. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(8), 791–796. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.04.019>.
- Naceanceno, K. S., Matamoros, G., Gabrie, J. A., Gabrie, J. A., Bottazzi, M. E., Sanchez, A., Sanchez, A., Mejia, R., & Mejia, R. (2020).** Use of multi-parallel real-time quantitative PCR to determine *Blastocystis* prevalence and association with other gastrointestinal parasite infection in a rural honduran location. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(6), 1373–1375. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0876>.
- Nigro, L., Larocca, L., Massarelli, L., Patamia, I., Minniti, S., Palermo, F., & Cacopardo, B. (2003).** A placebo-controlled treatment trial of *Blastocystis hominis* infection with metronidazole. *Journal of Travel Medicine*, 10(2), 128–130. <https://doi.org/10.2310/7060.2003.31714>.

O

Oberhelman, R. A., Guerrero, E. S., Fernandez, M. L., Silio, M., Mercado, D., Comiskey, N., Ihenacho, G., & Mera, R. (1998). Correlations between intestinal parasitosis, physical growth, and psychomotor development among infants and children from rural Nicaragua. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 58(4), 470–475. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1998.58.470>.

Ojha, S. C., Jaide, C., Jinawath, N., Rotjanapan, P., & Baral, P. (2014). Geohelminths: Public health significance. *Journal of Infection in Developing Countries*, 8(1), 5–16. <https://doi.org/10.3855/jidc.3183>.

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2011). Helminth control in school-age children: a guide for managers of control programmes. Segunda Edición. Geneva: World Health Organization.

Organización Mundial de la Salud (OMS) Expert Committee on the Control of Schistosomiasis (2002). Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: report of a WHO expert committee (No. 912). Geneva: World Health Organization.

Organización Mundial de la Salud (OMS) (2017). Guideline: Preventive chemotherapy to control soil-transmitted helminth infections in at-risk population groups. Geneva: World Health Organization.

Organización Mundial de la Salud (OMS) (2019). Bench aids for the diagnosis of intestinal parasites. Geneva: World Health Organization.

Organización Mundial de la Salud (OMS), & Control of Neglected Tropical Diseases (NTD) (2020). 2030 targets for soil-transmitted helminthiasis control programmes (Antonio Montresor, Ed.). Geneva: World Health Organization.

Organización Mundial de la Salud (OMS) (2022). Geohelminthiasis. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>.

Organización Mundial de la Salud (OMS) (2023). Una sola salud. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/one-health>.

Organización de Naciones Unidas (ONU) (2015). Objetivos de desarrollo sostenible. Disponible en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/>.

Osorio-Pulgarin, M. I., Higuera, A., Beltran-álzate, J. C., Sánchez-Jiménez, M., & Ramírez, J. D. (2021). Epidemiological and molecular characterization of *Blastocystis* infection in children attending daycare centers in Medellín, Colombia. *Biology*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/biology10070669>.

P

Parija, S. C., & Khairnar, K. (2005). *Entamoeba moshkovskii* and *Entamoeba dispar*-associated infections in pondicherry, India. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 23(3), 292–295.

Parkar, U., Traub, R. J., Vitali, S., Elliot, A., Levecke, B., Robertson, I., Geurden, T., Steele, J., Drake, B., & Thompson, R. C. A. (2010). Molecular characterization of *Blastocystis* isolates from zoo animals and their animal-keepers. *Veterinary Parasitology*, 169(1–2), 8–17. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.032>.

Perrucci, S., Berrilli, F., Procopio, C., di Filippo, M. M., Pierini, A., & Marchetti, V. (2020). *Giardia duodenalis* infection in dogs affected by primary chronic enteropathy. *Open Veterinary Journal*, 10(1), 74–79. <https://doi.org/10.4314/ovj.v10i1.12>.

Pires, S. M., Fischer-Walker, C. L., Lanata, C. F., Devleesschauwer, B., Hall, A. J., Kirk, M. D., Duarte, A. S. R., Black, R. E., & Angulo, F. J. (2015). Aetiology-specific estimates of the global and regional incidence and mortality of diarrhoeal diseases commonly transmitted through food. *PloS One*, 10(12), e0142927. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142927>.

Prieto-Pérez, L., Pérez-Tanoira, R., Cabello-Úbeda, A., Petkova-Saiz, E., & Górgolas-Hernández-Mora, M. (2016). Geohelminths. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 34(6), 384–389. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.02.002>.

Programa Mundial de Alimentos (WFP) (2023). Salvar vidas cambiar vidas. Nicaragua. Disponible en: <https://Es.Wfp.Org/Paises/Nicaragua>.

Q

Quihui, L., Valencia, M. E., Crompton, D. W. T., Phillips, S., Hagan, P., Morales, G., & Díaz-Camacho, S. P. (2006). Role of the employment status and education of mothers in the prevalence of intestinal parasitic infections in Mexican rural schoolchildren. *BMC Public Health*, 6, 225. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-6-225>.

R

- Ralston, K. S., Solga, M. D., Mackey-Lawrence, N. M., Somlata, Bhattacharya, A., & Petri, W. A. (2014).** Trophocytosis by *Entamoeba histolytica* contributes to cell killing and tissue invasion. *Nature*, 508(7497), 526–530. <https://doi.org/10.1038/nature13242>.
- Read, C. M., Monis, P. T., & Thompson, R. C. A. (2004).** Discrimination of all genotypes of *Giardia duodenalis* at the glutamate dehydrogenase locus using PCR-RFLP. *Infection, Genetics and Evolution*, 4(2), 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2004.02.001>.
- Ritchie, L. S (1948).** An ether sedimentation technique for routine stool examination Bulletin of the United States Army Medical Department, vol. 8, no. 4, p. 326.
- Rivero de R, Z. Calchi L., M. Acurero, E. Uribe, I., Villalobos P., R., Fuenmayor B., A, & Roo, J. (2012).** Protozoarios y helmintos intestinales en adultos asintomáticos del estado Zulia, Venezuela. *Kasmera*, 40, 186–194.
- Rocha, L. J. F. (2003).** Comportamiento de las enteroparasitosis en niños menores de 12 años procedentes de barrios de Managua y Masaya. Septiembre 2002-septiembre 2003. Tesis monográfica. Universidad Autónoma de Nicaragua (UNAN-Managua), Instituto Politécnico de salud, Managua.
- Roegner, A., Orozco, M. N., Jarquin, C., Boegel, W., Secaira, C., Caballeros, M. E., Al-Saleh, L., & Rejmánková, E. (2021).** Childhood parasitic infections and gastrointestinal illness in indigenous communities at Lake Atitlán, Guatemala. *PeerJ*, 9, e12331. <https://doi.org/10.7717/peerj.12331>.
- Rosewell, A., Robleto, G., Rodríguez, G., Barragne-Bigot, P., Amador, J. J., & Aldighieri, S. (2010).** Soil-transmitted helminth infection and urbanization in 880 primary school children in Nicaragua, 2005. *Tropical Doctor*, 40(3), 141–143. <https://doi.org/10.1258/td.2010.090425>.
- Royer, T. L., Gilchrist, C., Kabir, M., Arju, T., Ralston, K. S., Haque, R., Clark, C. G., & Petri, W. A. (2012).** *Entamoeba bangladeshi* nov. sp., Bangladesh. *Emerging Infectious Diseases*, 18(9), 1543–1545. <https://doi.org/10.3201/eid1809.120122>.
- Ryan, U., & Cacciò, S. M. (2013).** Zoonotic potential of *Giardia*. *International Journal for Parasitology*, 43(12–13), 943–956. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.001>.
- Ryan, U. M., Feng, Y., Fayer, R., & Xiao, L. (2021).** Taxonomy and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* and *Giardia* – a 50 year perspective (1971–2021). *International Journal for Parasitology*, 51(13–14), 1099–1119. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.08.007>.

S

- Saboyá, M. I., Catalá, L., Nicholls, R. S., & Ault, S. K. (2013).** Update on the mapping of prevalence and intensity of infection for soil-transmitted helminth infections in Latin America and the Caribbean: a call for action. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(9), e2419. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002419>.
- Samarasinghe, B., Johnson, J., & Ryan, U. (2008).** Phylogenetic analysis of *Cystoisospora* species at the rRNA ITS1 locus and development of a PCR-RFLP assay. *Experimental Parasitology*, 118(4), 592–595. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2007.10.015>.
- Samie, A., Guerrant, R. L., Barrett, L., Bessong, P. O., Igumbor, E. O., & Obi, C. L. (2009).** Prevalence of intestinal parasitic and bacterial pathogens in diarrhoeal and non-diarrhoeal human stools from Vhembe District, South Africa. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 27(6):739-745. <https://doi.org/10.3329/jhpn.v27i6.4325>.
- Samie, A., Tanih, N. F., Seisa, I., Seheri, M., Mphahlele, J., ElBakri, A., & Mbatl, P. (2020).** Prevalence and genetic characterization of *Giardia lamblia* in relation to diarrhea in Limpopo and Gauteng provinces, South Africa. *Parasite Epidemiology and Control*, 9. <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2020.e00140>.
- Santin, M., Figueiredo, A., Molokin, A., George, N. S., Köster, P. C., Dashti, A., González-Barrio, D., Carmena, D., & Maloney, J. G. (2024).** Division of *Blastocystis* ST10 into three new subtypes: ST42-ST44. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 71(1). <https://doi.org/10.1111/jeu.12998>.
- Santin, M., Molokin, A., & Maloney, J. G. (2023).** A longitudinal study of *Blastocystis* in dairy calves from birth through 24 months demonstrates dynamic shifts in infection rates and subtype prevalence and diversity by age. *Parasites and Vectors*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-023-05795-0>.
- Sarria-Guzmán, Y., Chávez-Romero, Y., Bernal, J. E., González-Jiménez, F. E., Serrano-Silva, N., & Fusaro, C. (2022).** Molecular identification of *Giardia* spp. In Latin America: An updated systematic review on reports from 2017 to 2021. *Journal of Infection in Developing Countries*, 16(3), 392–401. <https://doi.org/10.3855/jidc.15806>.
- Šejnohová, A., Koutenská, M., Jirků, M., Brožová, K., Pavlíčková, Z., Kadlecová, O., Cinek, O., Maloney, J. G., Santín, M., Petrželková, K. J., & Jirků, K. (2024).** A cross-sectional survey of *Blastocystis* sp. and *Dientamoeba fragilis* in non-human primates and their caregivers in Czech zoos. *One Health*, 19, 100862. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2024.100862>.

Serrano-Cumplido, A., Ruiz Garcia, A., Segura-Fragoso, A., Olmo-Quintana, V., Micó Pérez, R. M., Barquilla-García, A., & Morán-Bayón, A. (2021). Aplicación del valor umbral del número de ciclos (Ct) de PCR en la COVID-19. *Medicina de Familia. SEMERGEN*, 47(5), 337–341. <https://doi.org/10.1016/j.semerg.2021.05.003>

Scicluna, S. M., Tawari, B., & Clark, C. G. (2006). DNA Barcoding of *Blastocystis*. *Protist*, 157(1), 77–85. <https://doi.org/10.1016/J.PROTIS.2005.12.001>.

Stanley, S. L. (2003). Amoebiasis. *The Lancet*, 361(9362), 1025–1034. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12830-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12830-9).

Sulaiman, I. M., Bern, C., Gilman, R., Cama, V., Kawai, V., Vargas, D., Ticona, E., Vivar, A., & Xiao, L. (2003). A molecular biologic study of *Enterocytozoon bienersi* in HIV-infected patients in Lima, Peru. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 50 Suppl, 591–596. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2003.tb00642.x>.

T

Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.

Téllez, A., Morales, W., Rivera, T., Meyer, E., Leiva, B., & Linder, E. (1997). Prevalence of intestinal parasites in the human population of León, Nicaragua. *Acta Tropica*, 66(3), 119–125. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(97\)00037-5](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(97)00037-5).

Téllez, A., Palm, D., Weiland, M., Alemán, J., Winiecka-Krusnell, J., Linder, E., & Svärd, S. (2005). Secretory antibodies against *Giardia intestinalis* in lactating Nicaraguan women. *Parasite Immunology*, 27(5), 163–169. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2005.00758.x>.

Tiangtip, R., & Jongwutiwes, S. (2002). Molecular analysis of *Cryptosporidium* species isolated from HIV-infected patients in Thailand. *Tropical Medicine & International Health*, 7(4), 357–364. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2002.00855.x>.

Tito, R. Y., Chaffron, S., Caenepeel, C., Lima-Mendez, G., Wang, J., Vieira-Silva, S., Falony, G., Hildebrand, F., Darzi, Y., Rymenans, L., Verspecht, C., Bork, P., Vermeire, S., Joossens, M., & Raes, J. (2019). Population-level analysis of *Blastocystis* subtype prevalence and variation in the human gut microbiota. *Gut*, 68(7), 1180–1189. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316106>.

V

Vallejo, A., & Pitalúa, N. (2002). Presencia de *Myxobolus* sp. (Sporozoa: Cnidospora) en Bocachico *Prochilodus Magdalenae* de la Ciénaga Grande de Lórica, Córdoba, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 72(2). <https://doi.org/10.21897/rmvz.525>.

Verweij, J. J., Schinkel, J., Laeijendecker, D., van Rooyen, M. A. A., van Lieshout, L., & Polderman, A. M. (2003a). Real-time PCR for the detection of *Giardia lamblia*. *Molecular and Cellular Probes*, 17(5), 223–225. [https://doi.org/10.1016/s0890-8508\(03\)00057-4](https://doi.org/10.1016/s0890-8508(03)00057-4).

Verweij, J. J., Oostvogel, F., Brien, E. A. T., Nang-Beifubah, A., Ziem, J., & Polderman, A. M. (2003b). Short communication: Prevalence of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in northern Ghana. *Tropical Medicine & International Health*, 8(12), 1153–1156. <https://doi.org/10.1046/j.1360-2276.2003.01145.x>.

Vivancos, V., González-Alvarez, I., Bermejo, M., & Gonzalez-Alvarez, M. (2018). Giardiasis: characteristics, pathogenesis and new insights about treatment. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 18(15), 1287–1303. <https://doi.org/10.2174/1568026618666181002095314>.

W

Wisetmora, A., Artchayasawat, A., Laummaunwai, P., Pitaksakulrat, O., Wattanawong, O., & Boonmars, T. (2024). Formalin-fixed stool improves the performance of the Kato-Katz method. *Veterinary World*, 17(1), 99–107. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2024.99-107>.

Z

Zhang, X., Qiao, J. Y., Zhou, X. J., Yao, F. R., & Wei, Z. C. (2007). Morphology and reproductive mode of *Blastocystis hominis* in diarrhea and in vitro. *Parasitology Research*, 101(1), 43–51. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0439-x>.