



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

CARACTERIZACIÓN DE LA
PRESENTACIÓN CLÍNICA DE LA
FASCIOLIASIS HUMANA A NIVEL
COMUNITARIO EN NIÑOS DE 3 A 16
AÑOS DE LA PROVINCIA DE ANTA EN
CUSCO

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN
INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

KAREN MOZO VELAZCO

LIMA – PERÚ

2023

ASESOR

M.Sc., M.D. Miguel Mauricio Cabada Samame

JURADO DE TESIS

DR. GERMAN FELIPE ALVARADO CUTIPA FLORES

PRESIDENTE

DRA. LUZ MOYANO VIDAL

VOCAL

DR. JUAN ANTONIO FLORES TUMBA

SECRETARIO

DEDICATORIA.

A mis padres Gabriel e Hilda y mi hermano P.J.,
por la mano afectuosa con la que acompañan mi camino,
porque sin su amor y ejemplo nada podría conseguir.

AGRADECIMIENTOS.

A mis amigos, por estar, por serlo.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO.

Tesis Autofinanciada

CARACTERIZACIÓN DE LA PRESENTACIÓN CLÍNICA DE LA FASCIOLIASIS HUMANA A NIVEL COMUNITARIO EN NIÑOS DE 3 A 16 AÑOS DE LA PROVINCIA DE ANTA EN CUSCO

INFORME DE ORIGINALIDAD

7%

INDICE DE SIMILITUD

6%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

| | | |
|---|--|-----|
| 1 | repositorio.unamba.edu.pe Fuente de Internet | 1% |
| 2 | Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante | <1% |
| 3 | Submitted to Tecsup Trabajo del estudiante | <1% |
| 4 | Submitted to Universidad Católica Los Angeles de Chimbote Trabajo del estudiante | <1% |
| 5 | www.scielo.org.pe Fuente de Internet | <1% |
| 6 | www.ohaus.ca Fuente de Internet | <1% |
| 7 | Submitted to Universidad Científica del Sur Trabajo del estudiante | <1% |
| 8 | clinicaltrials.gov | |

TABLA DE CONTENIDOS

| | |
|---|----|
| RESUMEN | |
| ABSTRACT | |
| I. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| II. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO | 5 |
| III. OBJETIVOS | 7 |
| 3.1 OBJETIVO GENERAL | 7 |
| 3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS..... | 7 |
| IV. METODOLOGÍA..... | 8 |
| 4.1 Diseño del estudio | 9 |
| 4.2 Diseño muestral..... | 9 |
| 4.2.1 Población del estudio primario..... | 9 |
| 4.2.2 Criterios de inclusión para el estudio de tesis | 10 |
| 4.2.3 Criterios de exclusión para el estudio de tesis..... | 10 |
| 4.3 Muestreo..... | 11 |
| 4.3.1 Tipo de muestreo | 11 |
| 4.4 Procedimientos | 11 |
| 4.4.1 Preparación..... | 11 |
| 4.4.2 Tamizaje y enrolamiento del estudio primario..... | 12 |
| 4.4.2.1 Enrolamiento | 12 |
| 4.4.3 Recolección de datos | 13 |
| 4.4.3.1 Estudios previos | 16 |
| 4.5 Variables de estudio | 17 |
| 4.5.1 Variable desenlace y co-variable principal | 18 |
| 4.5.2 Tamaño de muestra y Potencia estadística..... | 19 |
| 4.5.2.1 Calculo de la Potencia Estadística..... | 19 |
| 5 Aspectos Éticos..... | 19 |
| Procesamiento y análisis estadístico..... | 21 |
| V. RESULTADOS | 25 |
| VI. DISCUSIÓN | 40 |
| VII. CONCLUSIONES..... | 45 |
| VIII. RECOMENDACIONES | 46 |
| IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 47 |
| X. ANEXOS | |

RESUMEN

La fascioliasis es hiperendémica en Perú y presenta síntomas inespecíficos en la comunidad que dificultan su identificación. Objetivo: Determinar los hallazgos clínicos o combinaciones de éstos que permitan la identificación de fascioliasis crónica en niños de la comunidad y proponer un score de ayuda diagnóstica. Metodología: Estudio transversal y analítico. Análisis secundario del estudio “Impacto de fasciola en los niños en comunidades altoandinas” de 3 a 16 años en Cusco. Fascioliasis crónica se definió como presencia de huevos de *Fasciola hepatica* en heces. Infección negativa se definió como ausencia de huevos de *Fasciola* u otros parásitos en heces y serología negativa para *Fasciola*. Se obtuvo información demográfica, clínica y laboratorial (tres muestras seriadas de heces, una de sangre para Fas2-ELISA). Se utilizaron curvas ROC y regresión logística para determinar sensibilidad y especificidad de combinaciones de síntomas y laboratorio para identificar fascioliasis crónica. Resultados: Se incluyeron 909 niños, 162 con fascioliasis crónica y 747 negativos, de sexo femenino 52%, edad promedio 9.6 años (± 3.6). Comparando niños con fascioliasis crónica y negativos no hubo diferencias por sexo ($p=0.690$) o edad ($p=0.082$). En fascioliasis crónica, se encontraron más frecuentemente: fatiga ($p\leq 0.001$), vómitos ($p=0.009$), anorexia ($p=0.006$), dolor en hipocondrio derecho ($p\leq 0.001$) y diarrea ($p=0.040$); valores alterados en hematocrito ($p=0.038$), hemoglobina ($p=0.008$), leucocitos ($p=0.043$) y eosinófilos ($p\leq 0.001$). La combinación de dolor en hipocondrio derecho, fatiga y eosinofilia identificó fascioliasis crónica con alta sensibilidad (85%) y especificidad (92%). Conclusión: Los niños con fascioliasis crónica tienen características que permiten identificarlos usando el score propuesto en comunidades endémicas.

Palabras clave: Fascioliasis, *Fasciola hepatica*, parasitosis

ABSTRACT

Fascioliasis is hyperendemic in Peru and it has non-specific symptoms in the community that makes it difficult to identify. The aim of this study was to determine clinical findings or combinations that allow the identification of chronic fascioliasis in children from the community and propose a diagnostic score. Methodology: Cross sectional - analytic study. Secondary data analysis of the study "Impact of Fascioliasis among Children in the Peruvian Highlands" from 3 to 16 years old in Cusco. Chronic fascioliasis was defined as presence of *Fasciola hepatica* eggs in feces. Negative infection was defined as absence of *Fasciola* eggs or other parasites in feces and negative *Fasciola* serology. Demographic, clinical and laboratory information were obtained (three stool specimens, blood sample for Fas2-ELISA). ROC curves and logistic regression were used to determine the sensitivity and specificity of symptoms and laboratory combinations to identify chronic fascioliasis. Results: 909 children were included, 162 with chronic fascioliasis and 747 negatives, being female (52%), mean age of 9.6 years (± 3.6). Comparing children with chronic fascioliasis and those negative, no differences were found by sex ($p=0.690$) or age ($p=0.082$). In chronic fascioliasis were more frequent: right upper quadrant abdominal pain ($p\leq 0.001$), fatigue ($p\leq 0.001$), anorexia ($p=0.006$), vomiting ($p=0.009$), diarrhea ($p=0.040$); abnormal: hematocrit ($p=0.038$), hemoglobin ($p=0.008$), leucocytes ($p=0.043$), eosinophils ($p\leq 0.001$). Combination of right upper quadrant abdominal pain, fatigue and eosinophilia identified chronic fascioliasis with high sensitivity (85%) and specificity (92%). Conclusions: Children with chronic fascioliasis have characteristics that allow use the proposed score for their identification in endemic communities.

Keywords: Fascioliasis, *Fasciola hepatica*, parasites

I. INTRODUCCIÓN

Los trematodos *Fasciola hepatica* y *Fasciola gigantica* se han diseminado prácticamente en todos los continentes del mundo (1). Existen aproximadamente de 2.65 a 17 millones de personas afectadas en el mundo y de estas más del 50% viven en Latinoamérica. Otros 180 millones de personas se encuentran en riesgo de ser infectadas en el mundo (2,3). Se calcula que aproximadamente 7158 muertes al año son producidas como consecuencia de la infección por trematodos que son transmitidos por alimentos (4,5). La fascioliasis es considerada como un problema de salud pública (6,7), por el número de personas afectadas y sus complicaciones que representan una carga económica importante (3,8). A nivel veterinario se estima que hasta el 63% de ganado es afectado por este parásito en Perú (5). Esta infección está reemergiendo en Latinoamérica, estudios realizados los años noventa sentaron precedentes importantes sobre los tipos de situaciones endémicas respecto a este parásito (1,7). Para estos estudios se consideraron como áreas hipoendémicas aquellas cuyas prevalencias eran menores al 1%, mesoendémicas entre el 1 y 10% e hiperendémicas cuando superaron el 10% de la prevalencia en las comunidades, siendo además variables las intensidades leve, moderada y severa de infección descritas, menor a 50 huevos/gramo; entre 50 a 300 huevos/gramo, y mayores a 300 huevos/gramo respectivamente (10). Así mismo, se describen tasas hiperendémicas de *F. hepatica* en Perú y Bolivia (10–14), la prevalencia en poblaciones altoandinas de los Andes peruanos y bolivianos van de 3 al 17% (15) llegando en zonas como el Altiplano Boliviano al 68.2% (16). *F. hepatica* parece afectar en mayor proporción a la población infantil con leve predominio del género femenino

(2,14,17–20), conllevando a alteraciones en el crecimiento y desarrollo de los niños como consecuencias a largo plazo (21).

La variable presentación de la enfermedad va desde asintomática, presencia de signos y síntomas aislados, hasta cuadros severos por complicaciones (3,5,10) que eventualmente requieren manejo hospitalario. La falta de sospecha clínica en esta parasitosis evita la búsqueda activa de *F. hepatica* entre los niños aparentemente sanos de la comunidad. Los principales síntomas clínicos no son específicos de esta enfermedad y con frecuencia son compartidos con otras parasitosis o infecciones helmínticas como la equinococosis (22). La poca disponibilidad de pruebas diagnósticas económicas altamente sensibles en zonas endémicas e hiperendémicas es parte de los factores que han contribuido a la diseminación de esta zoonosis y también de la aparición de complicaciones a largo plazo (23–25). En ello radica la importancia de su pesquisa permanente en poblaciones hiperendémicas que compartan características que nos orienten a sospechar de esta parasitosis. Siendo características clínicas de interés en fascioliasis algunos como la cefalea, ictericia, fiebre, anorexia, náusea o vómitos, diarrea, dolor abdominal, dispepsia e indigestión.

Los casos no diagnosticados por ser asintomáticos o subclínicos permanecerán con un alto riesgo de desarrollar procesos inflamatorios crónicos que, además de aquejar la salud de los niños por largos periodos de tiempo, perturbarán su crecimiento y desarrollo, como se demostró encontrándose prevalencias de 35.7% entre los casos positivos para *F. hepatica* en estudios similares (21). El correcto diagnóstico de fascioliasis permite la detección temprana e interrupción de la evolución hacia

procesos inflamatorios crónicos entre los hospederos de este parásito, como los descritos a nivel hepático y de tipo fibrótico en algunos pacientes (19).

La prueba dorada para el diagnóstico de esta parasitosis es la sedimentación rápida de Lumbreras (26-28) que junto a la sedimentación en placa son las mejores opciones en zonas con pocos recursos. Se disponen también de pruebas inmunológicas altamente sensibles como la prueba Fas2- ELISA consistente en la captura de IgG a través de la prueba ELISA (acrónimo del inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay: “Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas”) (26–28), de la cual se disponen de múltiples reportes respecto a su alta sensibilidad 92.4 – 96.7%, especificidad de 83.6%, y valor predictivo negativo que es de 97.2% comparada con la prueba de sedimentación líquida rápida de lumbreras (26–29). Pese a esto, la complejidad técnica y tecnológica para llevar a cabo esta prueba hace que no sea considerada un examen de rutina en zonas hiperendémicas donde es necesario realizar detecciones precoces de fascioliasis (26).

Planteamiento de la Investigación

Este es un análisis de datos obtenidos de un estudio transversal para determinar la asociación entre la presentación de signos, síntomas, hallazgos clínicos o combinaciones de estos en los niños con fascioliasis crónica evaluados a nivel comunitario frente a aquellos niños que son negativos para cualquier parásito, en los niños evaluados en Anta, Cusco. El estudio refleja la intervención realizada en las escuelas de las comunidades circundantes a la provincia de Anta – Cusco, donde fascioliasis ha sido descrita en varias de estas comunidades. Según estudios locales, aproximadamente el 25% de la población de esta zona tiene entre 3 a 16 años (24), se reporta alta prevalencia de esta parasitosis (20%) en algunas comunidades, y está

asociada con anemia y malnutrición en niños viviendo en estas áreas endémicas (24,25). Se requiere una fuerte sospecha clínica para buscar la presencia del parásito, no todos los casos se presentan con las características clínicas de tipo bifásica aguda y/o crónica (18). La sobreposición de estas fases ocasiona que muchas veces no exista sospecha clínica, esto debido a que la presencia de sintomatología está en relación con la intensidad de la infección (12,19). Identificar pacientes tempranamente es necesario para prevenir complicaciones de la infección que afecta el desarrollo en niños. No existen herramientas para identificar sujetos con mayor probabilidad de fascioliasis crónica en la comunidad y para los cuales las pruebas de laboratorio tengan una alta probabilidad de ser positivas. Por ese motivo, planteo evaluar qué combinaciones de síntomas y signos o hallazgos clínicos mostrarían a niños en riesgo de infección por *F. hepatica* en la comunidad usando datos colectados transversalmente de niños en edad preescolar y escolar.

Pregunta de investigación:

¿Existen síntomas, hallazgos clínicos o combinaciones de éstos que permitan la identificación de fascioliasis crónica en la comunidad en niños de 3 a 16 años de la Comunidad de Anta, Cusco?

II. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La prevalencia de *F. hepatica* varía ampliamente (0 a 70%) dependiendo del área geográfica en que se estudie (12,13,18,21). Esta parasitosis está considerada dentro de las “enfermedades desatendidas” según la Organización Mundial de la Salud (OMS). Sin embargo, múltiples estudios en la población infantil demuestran el serio impacto que puede tener en el crecimiento, malnutrición y anemia en los niños (12,18,19,21).

Perú y otros países latinoamericanos como Bolivia, han instaurado programas de tratamiento masivos en escuelas y colegios de áreas rurales para parásitos endémicos a nivel nacional, buscando controlar parásitos de alta prevalencia como *Giardia lamblia*, *Ascaris lumbricoides* y otros helmintos, siendo los medicamentos de elección utilizados el metronidazol y albendazol (30), y *F. hepatica* no es susceptible a estos antiparasitarios. Triclabendazole, la única medicina disponible para tratar *F. hepatica* en humanos no está disponible comercialmente en Perú. El acceso a esta medicina es solo a través de un programa de donación de Novartis a la OMS, organismo que provee este medicamento gratuitamente a los países miembros, a pesar de ello este no llega a la mayoría de las zonas endémicas. Siendo el único tratamiento efectivo, su uso conlleva el riesgo de la creación de resistencia cuando es utilizado como tratamiento masivo. Entonces, a falta de un adecuado tratamiento y seguimiento de los casos detectados, la persistencia de esta parasitosis en zonas endémicas está garantizada. No se han descrito en detalle la epidemiología, sintomatología y presentación clínica de los casos que evolucionan naturalmente en la comunidad y que no son detectados por el sistema de salud. Un estudio de estas características es importante para permitir implementar medidas preventivas y de

control entre niños afectados en las comunidades endémicas dado que ayudará a identificar niños en riesgo de fascioliasis crónica.

Considerando que, en Perú se ven afectados sobre todo los sectores más pobres y vulnerables de 18 regiones donde se presentan prevalencias elevadas de casos, siendo perjudicados generalmente los niños. Al ser un parásito que afecta crónicamente a sus hospederos, estos se verán afectados por periodos prolongados de tiempo y muchos de estos permanecen sin diagnosticar, por tanto, se desconocen las complicaciones a largo plazo en este grupo. Por ejemplo, patologías como fibrosis hepática y cirrosis parecen ser consecuencias en los hospederos relacionadas a la fascioliasis, pero se necesita mayor investigación para determinar estas asociaciones.

La información obtenida servirá para crear estrategias de salud pública que permitan abordar problemas no solo relacionados a la fascioliasis, sino también influyan indirectamente en disminuir los casos de bajo peso y desnutrición que derivan de ésta y su asociación con otras parasitosis y complicaciones en niños.

III. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar los hallazgos clínicos o combinaciones de éstos que permitan la identificación de fascioliasis crónica en niños de la comunidad.

3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Crear un score basado en hallazgos clínicos y de laboratorio, o combinaciones de éstos para guiar el tamizaje y como ayuda diagnóstica en los casos de fascioliasis en niños de la comunidad.
- Comparar los síntomas presentes en niños con fascioliasis crónica y aquellos niños negativos para *F. hepatica* u otros parásitos.
- Comparar las características epidemiológicas y laboratoriales en niños de 3 a 16 años con fascioliasis crónica y sin fascioliasis crónica u otros parásitos.

IV. METODOLOGÍA

El estudio primario “Impacto de Fascioliasis en niños en las alturas de Perú”, fue la base del presente estudio de tesis. El estudio primario recolectó información de tipo demográfico, socioeconómico, nutricional, clínico y laboratorial. Para esto, se entrevistaron a padres y niños en 26 comunidades de los distritos de Anta, Ancahuasi y Zurite en la provincia de Anta, Cusco. El enrolamiento se realizó en centros de educación inicial, escuelas primarias y secundarias de la zona. En el lugar de enrolamiento se realizó un examen físico en busca de hallazgos clínicos presentes al momento de la entrevista que fueran fácilmente identificables por personal técnico de enfermería (Anexo 1, cuestionario de enrolamiento). Siguiendo lineamientos de OMS se tomaron medidas antropométricas que incluyeron peso y talla. Se recolectó información acerca de signos y síntomas presentes en los tres meses previos a la entrevista. Posteriormente, en sus domicilios, se realizó otra encuesta enfocada en seguridad alimentaria y dieta de los participantes y sus familias. Se solicitaron tres muestras de heces a cada niño en días consecutivos. Las muestras de heces se analizaron mediante sedimentación rápida modificada por Lumbreras y Kato Katz para la detección de huevos y larvas de helmintos. Adicionalmente, se solicitó una muestra de sangre venosa de cada participante para realizar un hemograma completo con recuento diferencial automatizado. Todas estas muestras fueron llevadas y procesadas en el laboratorio del Instituto de Medicina Tropical sede Cusco de la Universidad Peruana Cayetana Heredia y analizadas para anticuerpos de *F. hepatica*, hemograma completo, transaminasas séricas, Proteína C reactiva, hierro y pruebas como Interleukina 6, Neuropeptido Y, Heptacidina.

El presente estudio de tesis es un análisis secundario de los datos obtenidos en este estudio primario, donde se incluyó a niños con fascioliasis crónica, definida como aquellos niños con resultados positivos para huevos de *F. hepatica* en heces y a los niños negativos a cualquier parásito en heces y que tuvieron resultado de Fas2-ELISA negativo, creando así un grupo positivo y un grupo negativo para *F. hepatica*. En esta subpoblación se analizaron mediante pruebas de Chi cuadrado, regresión logística y curvas ROC (siglas en inglés del acrónimo Receiver Operating Characteristic, o Característica Operativa del Receptor en español), las características sociodemográficas, los síntomas, signos, hallazgos clínicos y laboratoriales relevantes que permitan sugerir la presencia de fascioliasis crónica entre los niños de la comunidad estudiados, determinando la sensibilidad y especificidad de las combinaciones de estos factores.

4.1 Diseño del estudio

Estudio descriptivo de corte transversal – analítico, en los niños de 3 a 16 años provenientes de las comunidades de Anta – Cusco, con fascioliasis crónica definida por la presencia de huevos de *F. hepatica* en heces y aquellos niños con resultados negativos para *F. hepatica* u otros parásitos en heces y cuya prueba de Fas2-ELISA en suero haya resultado negativa.

4.2 Diseño muestral

4.2.1 Población del estudio primario

El estudio fue realizado en la provincia de Anta en Cusco, localizada en el sur de Perú, la cual está dividida en 9 distritos y 26 comunidades; los niños fueron enrolados en 22 de estas comunidades, procedentes de los tres principales distritos de la provincia, siendo estos los de Anta, Ancahuasi y Zurite. Esta provincia cuenta

con 60% de población rural, cuyas principales actividades económicas radican en la agricultura y ganadería (23, 24); por lo que la gente de la zona está en riesgo de infección por *F. hepatica*. La población tiene como lengua materna el quechua y entre los adultos de la zona los niveles de analfabetismo alcanzan el 22% (23, 24). Uno de cada 4 pobladores se encuentra entre los 3 a 16 años, encontrándose que el número de niños de 3 a 16 años en esta área está por encima de 7900 niños (24). Usando métodos de sedimentación líquida, en los años 2002 y 2006 se reportaron prevalencias de *F. hepatica* del 10% en comunidades como Kuramba y otras de los distritos de Anta y Zurite (24,25).

4.2.2 Criterios de inclusión para el estudio de tesis

- Niños de los centros de cuidado infantil y escuelas entre 3 a 16 años en los distritos de Ancahuasi, Zurite y Anta con, por lo menos, dos años de residencia.
- Niños que no hayan recibido tratamiento para fascioliasis en los últimos 2 años.
- Niños que cuenten con encuestas adecuadamente llenas en las secciones referentes a sintomatología y examen físico.
- Niños que cuenten con muestras y resultados de laboratorio para todas las pruebas.

4.2.3 Criterios de exclusión para el estudio de tesis

- Niñas embarazadas.
- Niños cuyos padres rechacen firmar el formato de consentimiento informado y niños que no asientan su participación.
- Niños sin resultados de pruebas serológicas.
- Niños que presenten algún otro parásito, tengan Fas2 – ELISA (+) o sean negativos para otros parásitos, pero tengan Fas2 – ELISA (+).

4.3 Muestreo

4.3.1 Tipo de muestreo

En los distritos donde se realizó el estudio el estudio primario, todas las escuelas ubicadas en el área fueron invitadas a participar. Aquellas que aceptaron fueron incluidas en el estudio. Todos los niños fueron elegibles e invitados a participar. Los niños del estudio primario que fueron incluidos en este estudio fueron aquellos que asintieron su participación, contaban con consentimiento de sus padres, cumplían los criterios inclusión y fueron incluidos consecutivamente hasta llegar al tamaño muestral de 3000 niños. La muestra del estudio de tesis estuvo conformada por aquellos casos del estudio primario que cumplieron los criterios de inclusión indicados.

4.4 Procedimientos

4.4.1 Preparación

Antes de iniciar el estudio primario, personal del equipo de investigación difundió información sobre la fascioliasis, los objetivos del estudio y los procedimientos a realizarse entre las autoridades y la comunidad involucradas. Estas actividades preparatorias incluyeron charlas, que variaron en complejidad de lenguaje dependiendo de si estaban dirigidas a las autoridades o a personas de la comunidad. Se dieron charlas a la Dirección Regional de Salud del Cusco, a las autoridades de la red Norte-Cusco, a la micro-red de Anta, y los médicos de los centros de salud Anta, Ancahuasi y Zurite. La Municipalidad provincial de Anta, el Ministerio de Educación, los directores de las escuelas y centros de educación inicial, presidentes comunitarios y sus miembros también fueron informados sobre fascioliasis y el estudio de investigación. El enrolamiento de los participantes se llevó a cabo sólo

cuando las autoridades y miembros de la comunidad recibieron la información y estuvieron de acuerdo en formar parte del estudio.

4.4.2 Tamizaje y enrolamiento del estudio primario

4.4.2.1 Enrolamiento

En las escuelas o centro de cuidado infantil de cada comunidad el día previo al enrolamiento se llevó a cabo una reunión con los padres en la que se explicó los alcances de la investigación, los riesgos asociados a la participación y los beneficios de esta. Los padres debieron proporcionar su consentimiento informado por escrito antes de que el personal del estudio pudiera realizar los procedimientos de asentimiento informado, también recibieron información acerca de la colección de muestras, se les entregó los materiales donde colectarían las muestras de heces, se incentivó la concurrencia de los padres el día del enrolamiento para que reciban charlas adicionales. Luego, en cada institución educativa o de cuidado infantil se obtuvo el registro total de niños por cada grado y aula. Se le asignó un código a cada niño si al menos uno de los padres, o guardianes designados, consintió la participación de su hijo en el estudio. En todos los casos solo si el niño contaba con el consentimiento de sus padres (o solo padre o madre) y asintió su participación fue considerado como participante. Los códigos de participación fueron creados usando las 3 primeras letras de la comunidad de enrolamiento seguida por 4 números, este código se usó en todos los materiales referidos al participante. Un aula de cada escuela o centro de cuidado infantil fue usada como lugar de enrolamiento, donde se tomaron las medidas antropométricas y se realizó un breve examen físico de los niños, un trabajador de campo era el encargado de recibir de los padres las muestras de heces de los niños. Se obtuvieron muestras de sangre en

estas aulas luego de las cuales se les entregó galletas a los niños, cada encuentro duró menos de 20 minutos.

4.4.3 Recolección de datos

Se recogió información para el estudio primario mediante:

- a. Cuestionarios
- b. Examen físico
- c. Toma, recolección y procesamiento de muestras biológicas: tres muestras de heces seriadas en días consecutivos, y una muestra de sangre.

a. Cuestionarios (Anexo 1)

Se aplicó un cuestionario de enrolamiento y uno de visita domiciliaria.

El cuestionario de enrolamiento incluyó preguntas a los padres sobre los síntomas y signos de sus hijos antes que ellos tuvieran acceso a los resultados de los exámenes de laboratorio. Estuvo dividido en 5 secciones, descritas a continuación:

- La primera sección: información demográfica.
- La segunda: historia basal de enfermedad (o ausencia de ella), signos y síntomas del niño participante en los 3 últimos meses previos a la entrevista.
- La tercera: historia médica del participante.
- La cuarta: hallazgos del examen físico realizado por el personal de campo.
- La quinta sección: información sobre las muestras biológicas obtenidas.

El cuestionario del estudio primario aplicado a los familiares en los domicilios de los participantes por el personal de campo buscó recopilar información socioeconómica (Simple Poverty Score Card o escala simple de pobreza validado para Perú) y dietética o encuesta de seguridad alimentaria.

b. Examen Físico

El personal de campo realizó un breve examen físico, en presencia de los padres o algún otro familiar del niño como testigo, en un área designada y debidamente acondicionada dentro del aula el día del enrolamiento, haciendo uso de un par de guantes descartables de uso único, que además incluía valoraciones de peso y talla (se realizaron dos mediciones para cada participante).

c. Muestras biológicas

Los padres recibieron indicaciones precisas acerca de la recolección de muestras y se les entregó el material donde colectarían las muestras de heces. Un trabajador de campo era el encargado de recibir y rotular las muestras de heces de los niños traídas por los padres. La muestra de sangre (2.5 – 10 mL) fue obtenida en tubos sin aditivos (tapa roja) y con EDTA (tapa morada) con capacidad para 6 mL, colectada el día del enrolamiento de los niños participantes, mientras que las tres muestras de heces seriadas fueron obtenidas en los días posteriores y consecutivos al enrolamiento. Si alguna muestra no era colectada se visitaba el domicilio del participante durante las próximas 4 semanas para obtener las muestras faltantes. Las muestras de heces se conservaron y transportaron a temperatura ambiente y fueron procesadas luego de las primeras dos horas de su llegada al laboratorio con la prueba de Kato Katz y sedimentación rápida. Las muestras de sangre fueron colectadas en escuelas y centros de cuidado diario por flebotomistas experimentados, fueron rotuladas y transportadas con paquetes de hielo (ice packs) hasta el Laboratorio Alexander von Humboldt – sede Cusco y procesadas dentro de las 2 horas de su llegada al laboratorio, las pruebas como Fas2 – ELISA requirieron suero y para ello

fueron centrifugadas y procesadas de acuerdo con los procedimientos detallados a continuación y en los anexos.

c.1. Procesamiento de muestras biológicas

Descripción de procesos operativos estándar realizados en el estudio primario (Anexo 4).

- **Hemograma Completo**

Se procesó 20 µL de sangre a través de Citometría de flujo e impedancia, utilizando el Analizador Hematológico Automático Mindray BC-5300. Este sistema usa citometría de flujo fluorescente para conteo de células blancas y diferenciales, glóbulos rojos y plaquetas. Combina tecnologías de dispersión de laser semiconductor y usa un reactivo sin cianuro para la medición de la hemoglobina. El recuento diferencial proporciona 27 parámetros con diferenciación completa de los glóbulos blancos. Este sistema ofrece una sensibilidad del 83% y una especificidad del 100% según la descripción del equipo.

- **Método de concentración por sedimentación rápida (técnica de Lumbreras).**

Se procesaron 5 g de heces, usando el método cualitativo para concentrar huevos y larvas de helmintos y se usó microscopía para las lecturas. La sensibilidad descrita en estudios previos de esta prueba para diferentes parásitos va de 68% – 95.5% (28).

- **Prueba de Kato Katz**

Se procesaron 5 g de heces, usando el método cuantitativo para concentrar huevos de helmintos y la microscopía para las lecturas. La sensibilidad descrita en estudios previos para diferentes parásitos va de 41.7% – 93.8% (28).

- **Anticuerpos IgG para Fasciola**

De las muestras de sangre se obtuvo suero sanguíneo, de estas muestras 10 µL se procesaron mediante la técnica ELISA para detectar anticuerpos IgG Anti fasciola (Fas2) del laboratorio BIONOMA, no se realizaron modificaciones al procedimiento establecido por el fabricante (Anexo 4, sección 2.1). La fase sólida de ELISA basada en pozos microtitrados cubiertos con antígenos de *F. hepatica* adulta. Los especímenes diluidos (1/1500) y los controles son pipeteados en estos pozos, los anticuerpos específicos para *F. hepatica* de especímenes positivos y los controles son unidos para inmovilizar los antígenos. La Peroxidasa Horseradish conjugada y anticuerpos anti- IgG son vaciados en los pozos para la formación de inmunocomplejos unidos a enzimas. La sensibilidad referida de esta prueba por los estudios va del 95.3% al 96.7% y especificidad de 95.7% (26).

4.4.3.1 Estudios previos

Se realizaron estudios piloto en seis comunidades del distrito de Huancarani en la provincia de Paucartambo (21), una de las trece provincias de la Región Cusco. Se obtuvieron muestras de heces de 223 niños de 6 a 16 años para diagnóstico de *F. hepatica* y otros helmintos por microscopia. Los niños fueron considerados infectados si se encontraban huevos del parásito en heces. La prevalencia de fascioliasis fue del 10%, pero varió de 3% a 17% dependiendo de la comunidad. En estos estudios se validó el cuestionario que sería utilizado posteriormente en el estudio primario y del cual se obtuvieron los datos para el presente análisis.

- Entrenamiento del personal

Todo el personal que participó en el proyecto completó el Entrenamiento Institucional Colaborativo, módulos en Protección de humanos en Investigación y buenas prácticas Clínicas (Collaborative Institutional Training Initiative modules

on Human Subjects Research Protection and Good Clinical Practice). Fueron entrenados además en buenas prácticas de documentación y primeros auxilios.

El personal de laboratorio fue entrenado en generalidades del proyecto, procedimientos de bioseguridad y procedimientos de laboratorio estándar, adicionalmente recibieron copias de manuales de procedimientos y operaciones estándar en Parasitología, serología/hematología, los mismos que quedaron en físico en cada área del Laboratorio del Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt sede Cusco. Adicionalmente, los trabajadores de campo fueron entrenados en toma de medidas antropométricas y transporte de muestras.

4.5 Variables de estudio

4.5.1 Variable desenlace y co-variable principal

| Variable | Conceptualización | Dimensiones | Indicador | Escala | Categorías |
|---|---|--|--|-----------------------------|---|
| Características clínicas de fascioliasis | Manifestación de signos y síntomas como consecuencia de los efectos agudos del parásito u otro agente infeccioso/parasitario en el organismo de los niños. Signos y síntomas como dolor en hipocondrio derecho, fatiga, cefalea, anorexia, ictericia, diarrea, náusea / vómitos, falta de aire, silbido de pecho, tos, nódulos subcutáneos fueron estudiados. | Síntomas Signos | Ficha de recolección de datos | Nominal | Si No |
| Características Epidemiológicas | Características inherentes o adquiridas a la persona, sus ocupaciones, determinantes sociales, económicas, factores asociados de riesgo a contraer o no una enfermedad, las condiciones en las que viven. considerado como el tiempo en el que los participantes resultaron positivos para <i>F. hepatica</i> | Demográfica Socioeconómica Dietética | Ficha de recolección de datos | Nominal Ordinales | Si No Politómica Dicotómica |
| Características laboratoriales | Uso de pruebas de laboratorio para la determinación de la presencia o ausencia de huevos de <i>F. hepatica</i> en heces y de reactantes agudos de infección e inflamación en sangre. | Exámenes de sangre | Hemograma Fas2 - ELISA Hierro TGO / TGP | Cuantitativa Nominal | De acuerdo a valores normales Positivo Negativo |
| | | Exámenes de heces | Sedimentación en placa Kato Katz | Nominal Cuantitativa | |
| Negatividad para <i>F. hepatica</i> u otros parásitos | Ausencia de huevos de <i>F. hepatica</i> , o larvas de otros helmintos o parásitos en los exámenes de heces y que sean Fas2-ELISA negativos. | Negatividad para parásitos | Pruebas de laboratorio: Sedimentación en placa Kato Katz Fas2 - ELISA | Nominal | Si No |
| Fascioliasis o Positividad para <i>F. hepatica</i> | Definición de caso: Presencia de huevos de <i>F. hepatica</i> en alguno o cualquiera de los exámenes de heces (sedimentación en placa o Kato Katz), independientemente del resultado de Fas2-ELISA. Aquellos niños que solo tengan resultado Fas2-ELISA positivo en sangre no serán considerados como casos positivos de <i>F. hepatica</i> . | Positividad para <i>F. hepatica</i> | Pruebas de laboratorio: Sedimentación en placa Kato Katz | Nominal | Si No |

4.5.2 Tamaño de muestra y Potencia estadística

4.5.2.1 Calculo de la Potencia Estadística

Estudios previos realizados en Cusco, contaron con la participación de estudiantes por encima del 80% de la población disponible, estos estudios ayudaron para la estimación de la potencia estadística del estudio primario. Se tomó en cuenta que existen 22 escuelas rurales primarias y secundarias para la estimación de la potencia estadística. La presencia de estas escuelas en la zona de estudio permitió estimar que la cantidad aproximada de niños para el número de centros educativos sería de 5300 niños. Asumiendo una participación similar a la de estudios previos, este número permitiría el enrolamiento e inclusión de 3000 niños en un lapso de 4 años, incluso si se tenían retiros del estudio o existía una baja participación en él. Los niños fueron incluidos consecutivamente hasta llegar a la población total esperada, tamaños de muestras de grupos para análisis de sub-grupos fueron considerados en los cálculos. Considerando toda esta información se estimó una potencia estadística de 80%, misma que es usada para estudios epidemiológicos.

Para el análisis del estudio de tesis se incluyeron solo los casos de fascioliasis crónica o con huevos de *F. hepatica* en heces y negativos a *F. hepatica* o cualquier otro parásito en heces con Fas2 – ELISA (-). Siguiendo los criterios de inclusión del estudio de tesis, se contó con un total de 909 casos. Se consideró un análisis de dos colas, un nivel alfa de 0.05 y una potencia estadística de 80%.

5 Aspectos Éticos

El estudio primario uso consentimiento y asentimiento informado además que pasó los requerimientos solicitados por:

- El Código de Regulaciones Federales de Estados Unidos aplicable a estudios clínicos - U.S. Code of Federal Regulations applicable to clinical studies (45 CFR 46).
- Entrenamiento en Protección de sujetos humanos completa (Completion of Human Subjects Protection Training).
- Directiva N° 003-INS/OGITT-V0.1 del Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud del Perú.
- Comité de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Documentación adjunta en anexos, aprobación en fecha 09/12/14 Constancia 256 – 040 -14.

Para participar en el estudio primario se requirió que los padres o apoderados de los niños hayan leído y comprendido los formatos de consentimiento y asentimiento informado (Anexo 3). Debido a que el quechua es un idioma predominante entre la población de la zona, éste fue utilizado para brindar información por las trabajadoras de campo en los casos que lo requerían. El consentimiento informado era leído a los candidatos que no pudieron leer por sí mismos. Se entregaron copias a cada sujeto que firmó el consentimiento informado.

Aspectos Éticos del estudio de tesis:

Este es un análisis secundario de datos, por lo que no se tuvo contacto alguno con los participantes. Los posibles riesgos para los sujetos del análisis fueron mínimos, y relacionados sobre todo a una brecha en la confidencialidad. Sin embargo, toda la información fue tratada con estricta privacidad. No se tuvo acceso a información que permitiera la identificación directa del sujeto participante. A cada sujeto se le

asignó un código único de estudio, finalmente al ser un estudio de análisis de datos no existió riesgo adicional para los participantes.

Este protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la UPCH (CIE-UPCH) y se registró en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) con el N° 65085 – Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT).

Procesamiento y análisis estadístico

Se usó el programa estadístico STATA v15.0 (StataCorp. Stata Statistical Software: Release 15. College Station, TX, USA).

Primero, se usaron frecuencias para describir la distribución de las variables, para las variables discretas y promedios (\pm desviación estándar) y medianas (rango intercuartil) para las variables continuas, según corresponda.

Se compararon las diversas características clínicas y laboratoriales presentadas por los niños con fascioliasis crónica con los niños que no presentaron ningún tipo de parasitosis. Se realizó el análisis Chi cuadrado de los síntomas y se seleccionaron aquellos que fueron significativamente más frecuentes entre los niños con fascioliasis crónica para el análisis de regresión logística.

En el análisis de las pruebas de laboratorio, se obtuvieron primero las medianas y desviaciones estándar entre los niños con y sin fascioliasis crónica para luego compararlas y analizarlas con la curva ROC, análisis que proporcionó los puntos de corte óptimos entre estas pruebas. Estos puntos de corte sirvieron para categorizar y realizar el análisis de Chi cuadrado de las distintas variables laboratoriales y parámetros hematológicos, comparando así los casos de niños con fascioliasis crónica versus los casos de niños negativos y así seleccionar aquellas significativas

(con $p \leq 0.05$) para los modelos multivariados. Se valoraron los resultados de sensibilidad, especificidad y las áreas debajo de la curva para determinar las pruebas de laboratorio que entrarían en los modelos de análisis finales.

Los valores de hemoglobina fueron ajustados y corregidos para altura, a partir de los 1000 metros sobre el nivel del mar, usando las fórmulas propuestas por el Centro de control y prevención de Enfermedades (CDC) de Atlanta y la OMS.

Posteriormente, con las combinaciones de hallazgos clínicos que resultaron significativamente más frecuentes en los casos de fascioliasis crónica se crearon diversos modelos que fueron analizadas con la prueba exacta de Fisher y evaluadas con la curva ROC determinando la mejor combinación para elegir el modelo final, que permitiría identificar fascioliasis en la comunidad. Se estimó un intervalo de confianza del 95%, combinaciones de todas las asociaciones significativas marginales ($p \leq 0.05$) del análisis bivariado y regresión logística multivariada.

Finalmente, se creó un score (o puntuación por su traducción en español) que reunió todos los hallazgos clínicos importantes obtenidos mediante los análisis descritos, con las variables significativas que entraron en los modelos finales y se les asignó puntajes usando el coeficiente β .

El coeficiente β fue obtenido usando la función *logit*, OR, este coeficiente fue dividido con el valor de referencia obtenido de cada una de las variables, mismo que pudo ser distinto para algunas variables. Todos los coeficientes β fueron finalmente multiplicados por una constante (*100) con la finalidad de obtener valores de puntajes cercanos a la unidad.

Se creó un score de los siguientes modelos multivariados:

Score 1: Dolor hipocondrio derecho + Fatiga + Eosinófilos ≥ 2.45 %

Score 2: Dolor hipocondrio derecho + Fatiga + Eosinófilos ≥ 2.45 % + Leucocitos < 8.48 %

Score 3: Dolor hipocondrio derecho + Fatiga + Eosinófilos ≥ 2.45 % + Leucocitos < 8.48 % + Hemoglobina corregida < 14.11g/dL

Score 4: Dolor hipocondrio derecho + Fatiga + Eosinófilos ≥ 2.45 % + Hemoglobina corregida < 14.11g/dL + Hematocrito ≥ 44.15 %

Score 5: Dolor hipocondrio derecho + Fatiga + Eosinófilos ≥ 2.45 % + Hematocrito ≥ 44.15 %

Score 6: Dolor hipocondrio derecho + Eosinófilos ≥ 2.45 % + Hematocrito ≥ 44.15 %

Score 7: Dolor hipocondrio derecho + Fatiga + Eosinófilos ≥ 2.45 % + Plaquetas $\geq 235.50 \times 10^3 / \text{mm}^3$.

Como prueba de bondad de ajuste se utilizó el Criterio de información Akaike (AIC) y Bayesiano (BIC) para comparar todos los modelos propuestos, adicionalmente se realizaron curvas ROC a estos análisis.

En estos modelos, con las variables cuya sensibilidad y especificidad fueron iguales o superiores al 80% se usó el coeficiente β para la ponderación. Se usó esta información y basada en los datos obtenidos se construyó el Score final y se procedió a la ponderación de los eventos observados.

El score propuesto es una herramienta que permitiría aumentar la certeza en el diagnóstico de fascioliasis crónica tomando en cuenta los hallazgos clínicos en los cuales basa su ponderación.

En el score final, se asignó el puntaje de 1 o 2 a las variables que se encontraron en los modelos que presentaron los mejores puntajes de AIC. Se valoraron también los resultados obtenidos en la curva ROC (sensibilidad, especificidad y área bajo la curva), plausibilidad biológica y los antecedentes reportados en la bibliografía revisada.

Aquellas variables que resultaron estadísticamente significativas en los análisis pero que al ser combinadas en los diferentes modelos no tenían una equiparable sensibilidad y especificidad o área bajo la curva, fueron asignadas con menor puntaje (0.5) dentro del score propuesto.

Este puntaje fue asignado para las variables cuyos modelos no tuvieron los mejores resultados de sensibilidad y especificidad y cuyas variables podrían también encontrarse en otras patologías o podrían alterarse por otras circunstancias o patologías concomitantes, por ello se aproximaron a 0.50 (por ejemplo: hemoglobina corregida, leucocitos). Estas variables fueron incluidas a pesar que al obtener el valor usando el coeficiente β su peso fue menor dentro del modelo. dado que, al usar los puntos de corte óptimo su presencia fue estadísticamente significativa,

Finalmente, se asignaron valores a las variables incluidas en el score final que mostraban una alta sensibilidad y especificidad para la detección de *F. hepatica* en la comunidad, se identificó el punto de corte de 4 puntos con el cual se tiene sospecha de la presencia de fasciola crónica en los niños.

V. RESULTADOS

En el estudio primario, se enrolaron 3000 niños de 3 a 16 años, 50.2% (n=1505) fueron de sexo femenino, y la edad promedio fue 9.7 años \pm 3.6 años. La prevalencia global de *F. hepatica* fue de 8.8% (265/3000), esta prevalencia incluyó todos los casos detectados de fascioliasis, casos crónicos y aquellos positivos a la prueba de Fas2-ELISA (Tabla 1, figura 1-2).

Tabla 1. Características de la población de estudio*

| Características | Población total | | Población de Estudio | |
|---|------------------|------------------|----------------------|--|
| | n (%) | | de tesis n (%) | |
| Prevalencia de <i>F. hepatica</i> | | | | |
| <i>F. hepatica</i> en heces | 163/3000 (5.4) | | 162/909 (17.8) | |
| <i>F. hepatica</i> en heces & Fas2 (+) | 265/3000 (8.8) | | - | |
| Solo Fas2 (+) | 220/3000 (7.3) | | - | |
| Ningún parásito | 787/3000 (26.2) | | | |
| Con Fas2 (+) | 40 (5.1) | | - | |
| Con Fas2 (-) | 747 (94.9) | | 747/909 (82.2) | |
| Edad | | | | |
| Edad (años promedio \pm SD) | 9.7 \pm 3.6 | | 9.6 \pm 3.6 | |
| IQR† | 6.8 - 12.3 | | 6.8 - 12.4 | |
| Sexo | | | | |
| Femenino | 1505/3000 (50.2) | | 473/909 (52.0) | |
| Masculino | 1495/3000 (49.8) | | 436/909 (48.0) | |
| Distrito | | | | |
| Acahuasi | 1150/3000 (38.4) | | 376/909 (41.4) | |
| Anta | 1537/3000 (51.2) | | 464/909 (51.0) | |
| Zurite | 313/3000 (10.4) | | 69/909 (7.6) | |
| Historia de enfermedad diarreica o respiratoria* | | | | |
| Ultimos 12 meses | Si | 484/2955 (16.4) | 189/902 (21.0) | |
| | No | 2471/2955 (83.6) | 713/902 (79.0) | |
| Tratamientos recibidos* | | | | |
| Anemia | Si | 175/2885 (6.1) | 51/889 (5.7) | |
| | No | 2710/2885 (93.9) | 838/889 (94.3) | |
| Desnutrición | Si | 111/2885 (3.8) | 35/889 (3.9) | |
| | No | 2774/2885 (96.2) | 854/889 (96.1) | |
| Parásitos | Si | 392/2885 (13.6) | 113/889 (12.7) | |
| | No | 2493/2885 (86.4) | 776/889 (87.3) | |

* Existen datos faltantes por los padres que no respondieron esta pregunta

† Rango intercuartil

Figura 1. Prevalencia de *F. hepatica* en estudio primario

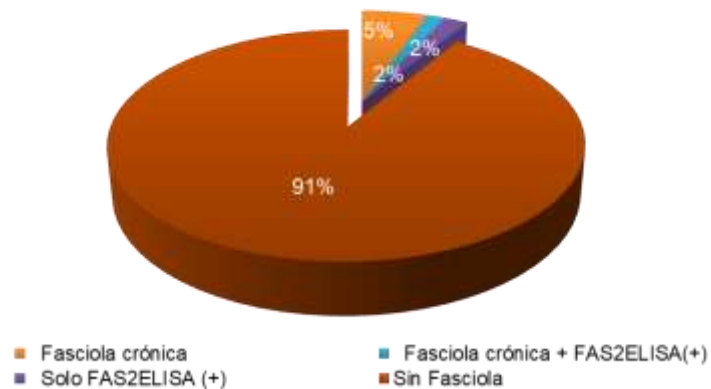


Figura 2. Prevalencia de *F. hepatica* en estudio de tesis

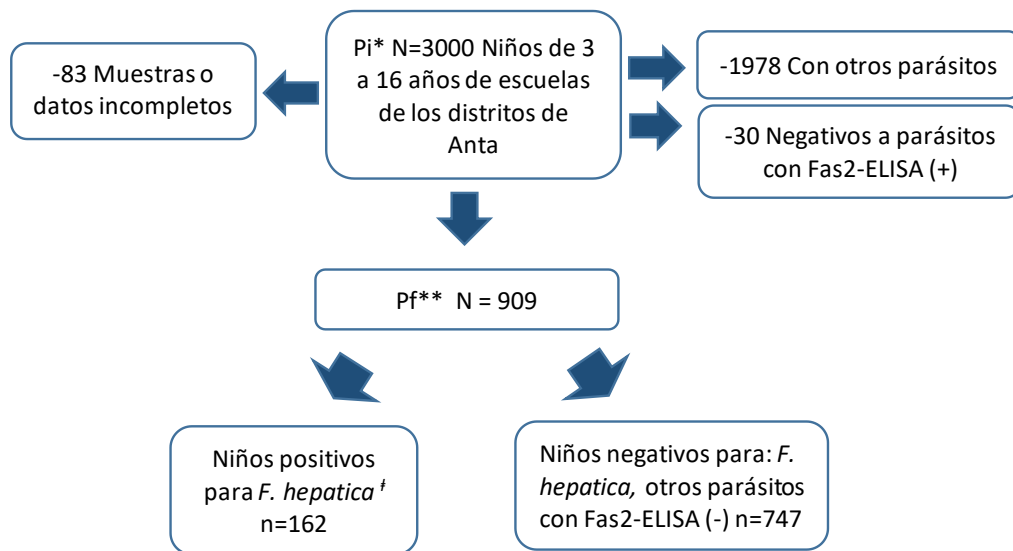


Para el estudio de tesis se encontraron los siguientes resultados:

Se excluyeron 83 participantes que no cumplieron los criterios de inclusión o no tenían suficientes muestras de heces (28 niños no tenían muestras de heces completas, 55 niños no contaban con información referente a sus síntomas y /o información demográfica). Algún otro parásito gastrointestinal fue diagnosticado en 1978 niños y estos casos fueron excluidos para evitar confusión con los síntomas que otros parásitos podrían generar (Figura 3). También se excluyó a 30 participantes cuyos exámenes de heces no mostraron quistes, huevos o larvas de otros parásitos gastrointestinales, pero que tuvieron un resultado positivo para Fas2-ELISA (Figura 3). Estos participantes fueron

excluidos para mejorar la precisión de este estudio, dado que la prueba Fas2-ELISA puede detectar casos agudos o de reciente inicio, o aquellos casos de fascioliasis crónica ya resuelta.

Figura 3. Diagrama de flujo de la Población de estudio



* Pi = Población inicial ** Pf = Población final

† Niños positivos a *F. hepatica* definido como fascioliasis crónica o presencia de huevos en heces.

La población final para el estudio de tesis fue de 909 niños (Tabla 2), de éstos 162 (17.8%) fueron clasificados como niños con fascioliasis crónica y 747 (82.2%) fueron clasificados como niños negativos a cualquier parásito con Fas2 -ELISA (-).

El 48% de toda la población de estudio fueron de sexo masculino (Figura 4) y el promedio de edad de todos los niños incluidos fue de 9.6 años (± 3.6).

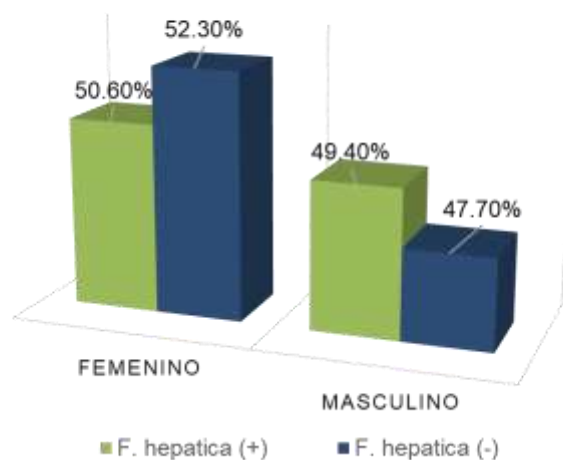
La proporción del sexo femenino en la población con fascioliasis crónica fue levemente menor frente a los casos negativos (50.6% vs. 52.3% respectivamente, $p=0.690$).

Tabla 2. Características Población de estudio N= 909

| Características | <i>F. hepatica</i> | | <i>p</i> |
|---|---------------------------|-----------------|----------|
| | Fasciolosis crónica n (%) | Negativos n (%) | |
| Edad en años (Media ± SD) | 10.6 ± 3.2 | 9.9 ± 3.5 | |
| 3 a 6 años | 25/162 (15.4) | 174/747 (23.3) | 0.082 |
| 7 a 11 años | 81/162 (50.0) | 350/747 (46.8) | |
| 12 a 16 años | 56/162 (34.6) | 223/747 (29.9) | |
| Sexo | | | |
| Femenino | 82/162 (50.6) | 391/747 (52.3) | 0.690 |
| Masculino | 80/162 (49.4) | 356/747 (47.7) | |
| Distrito | | | |
| Acahuasi | 74/162 (45.7) | 302/747 (40.5) | 0.459 |
| Anta | 76/162 (46.9) | 388/747 (51.9) | |
| Zurite | 12/162 (7.4) | 57/747 (7.6) | |
| Historia de enfermedad diarreica o respiratoria* | | | |
| Ultimos 12 meses (189/902) | Si | 19/160 (11.9) | 0.002 |
| | No | 141/160 (88.1) | |
| Tratamientos recibidos* | | | |
| Anemia (51/889) | Si | 13/159 (8.2) | 0.311 |
| | No | 146/159 (91.8) | |
| Desnutrición (35/889) | Si | 11/159 (6.9) | 0.093 |
| | No | 148/159 (93.1) | |
| Parásitos (113/889) | Si | 29/159 (18.2) | 0.063 |
| | No | 130/159 (81.8) | |

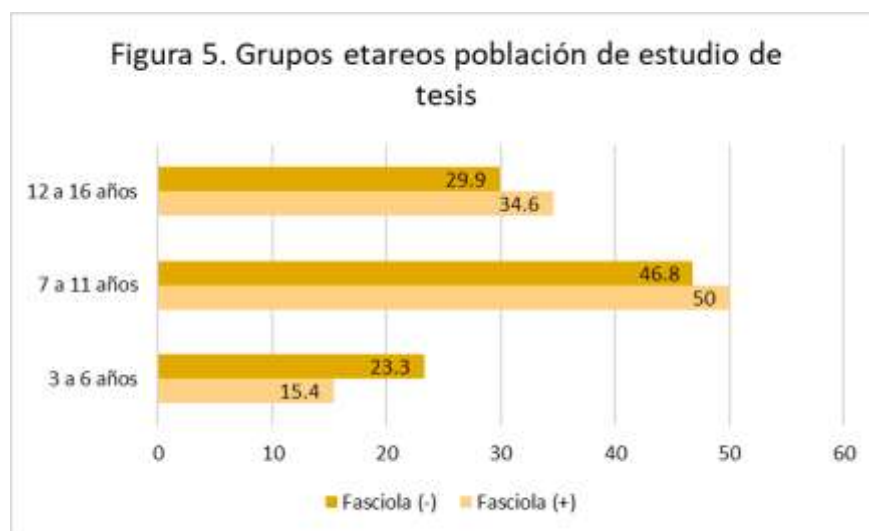
* Existen datos faltantes por los padres que no respondieron esta pregunta

Figura 4. Distribución por sexo en niños con y sin Fasciola



La edad promedio de los niños con fascioliasis crónica fue ligeramente mayor que la edad promedio de los niños del grupo de casos negativos (10.6 ± 3.2 vs. 9.9 ± 3.5 años respectivamente), pero la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0.082$).

Al comparar la prevalencia de fascioliasis crónica por grupos etarios (Figura 5) en la población de niños del estudio de tesis la mayor prevalencia se presentó en el grupo etario de 7 a 11 años (50%).



No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niños con y sin *F. hepatica* cuando se analizó la edad o el distrito (Figura 6, 7) del cual provenían ($p=0.459$). Todos los distritos estudiados presentaron casos de fascioliasis crónica.

Figura 6. Distrito de procedencia estudio primario

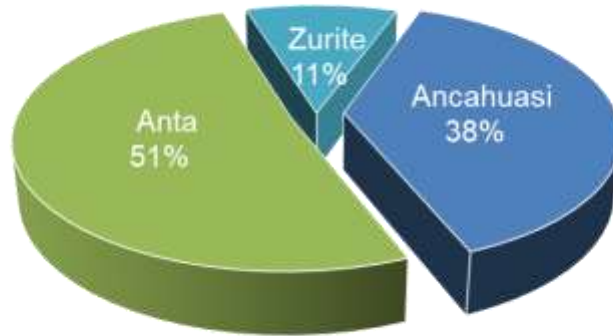
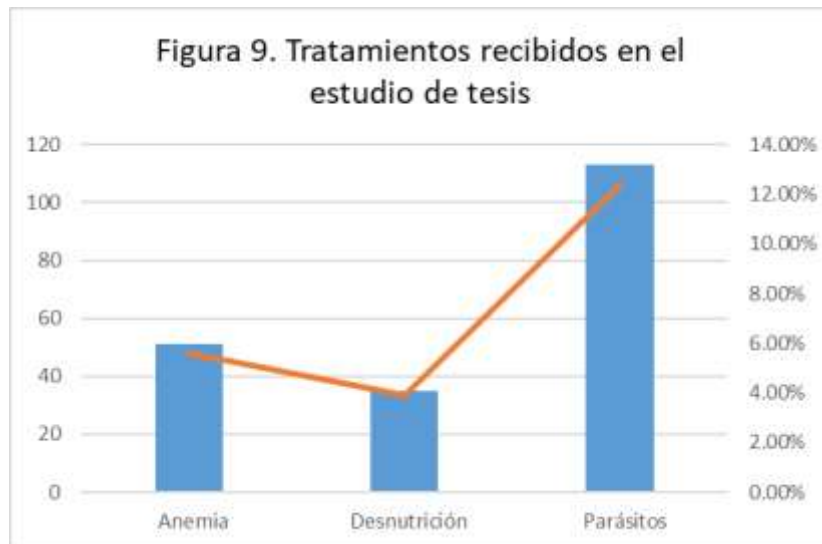
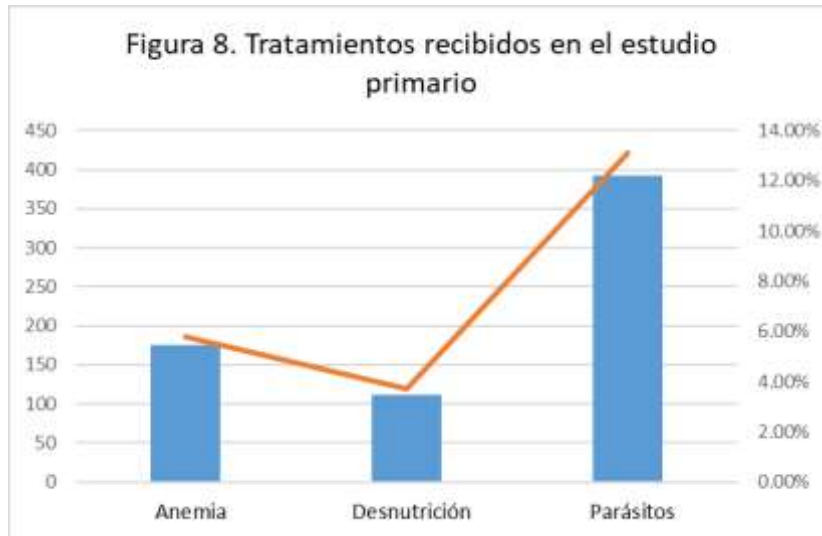


Figura 7. Distrito de procedencia estudio de tesis



Los niños con fascioliasis crónica tuvieron mayor probabilidad de presentar antecedente de enfermedad diarreica o respiratoria en los últimos 12 meses que los niños que resultaron negativos ($p=0.002$). Adicionalmente, los niños con fascioliasis crónica recibieron tratamiento para desnutrición ($p=0.093$), anemia ($p=0.311$) y parásitos ($p=0.063$), en mayor proporción que los niños negativos a cualquier parásito, pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Figura 8, 9).



Al evaluar la frecuencia de los síntomas (Tabla 3), los más reportados entre los niños con fascioliasis crónica fueron cefalea (n=90; 55.6%), dolor en hipocondrio derecho (n=76; 46.9%), y tos (n=75; 46.3%). Mientras que los niños que fueron negativos a cualquier parásito reportaron cefalea (n=349; 46.7%), tos (n=318; 42.6%), y fiebre (n=298; 39.9%).

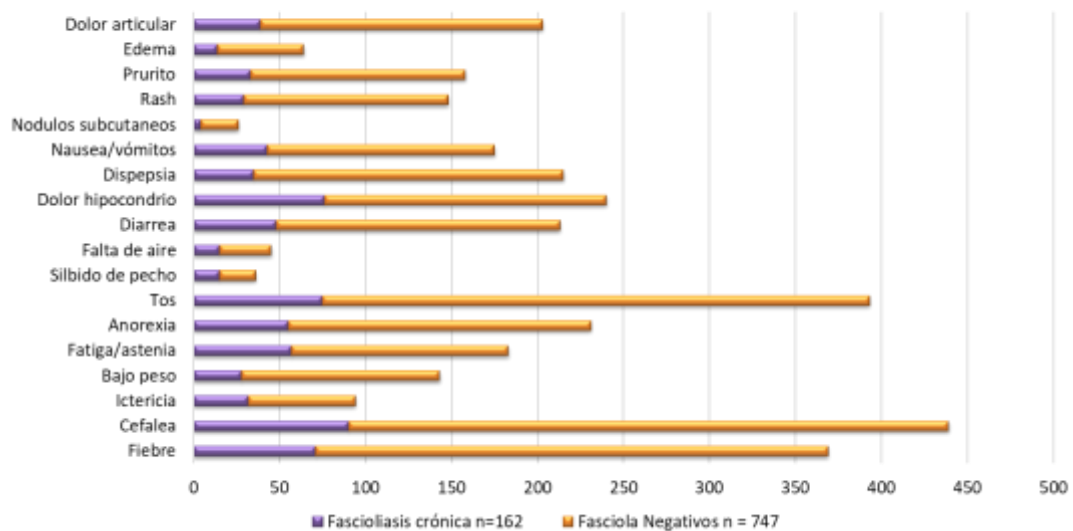
Tabla 3. Síntomas reportados en los últimos 3 meses N= 909

| Características Clínicas | | Total | F. hepatica | | p |
|--------------------------|----|------------|-----------------------------------|------------------------|---------|
| | | | Fascioliasis crónica n=162 (%) | Negativos n=747 (%) | |
| Fiebre | Si | 369 (40.6) | 71 (43.8) | 298 (39.9) | 0.355 |
| | No | 540 (59.4) | 91 (56.2) | 449 (60.1) | |
| Cefalea | Si | 439 (48.3) | 90 (55.6) | 349 (46.7) | 0.041 |
| | No | 470 (51.7) | 72 (44.4) | 398 (53.3) | |
| Ictericia | Si | 94 (10.3) | 32 (19.8) | 62 (8.3) | <0.001 |
| | No | 815 (89.7) | 130 (80.2) | 685 (91.7) | |
| Bajo peso | Si | 143 (15.7) | 28 (17.2) | 115 (15.4) | 0.549 |
| | No | 766 (84.3) | 134 (82.7) | 632 (82.7) | |
| Fatiga/astenia | Si | 183 (20.1) | 57 (35.2) | 126 (16.9) | < 0.001 |
| | No | 726 (79.9) | 105 (64.8) | 621 (83.1) | |
| Anorexia | Si | 231 (25.4) | 55 (34.0) | 176 (23.6) | 0.006 |
| | No | 678 (74.6) | 107 (66.0) | 571 (76.4) | |
| Tos | Si | 393 (43.2) | 75 (46.3) | 318 (42.6) | 0.385 |
| | No | 516 (56.8) | 87 (53.7) | 429 (57.4) | |
| Silbido de pecho | Si | 36 (4.0) | 15 (9.3) | 21 (2.8) | < 0.001 |
| | No | 873 (96.0) | 147 (90.7) | 726 (97.2) | |
| Falta de aire | Si | 45 (5.0) | 15 (9.3) | 30 (4.0) | 0.005 |
| | No | 864 (95.0) | 147 (90.7) | 717 (96.0) | |
| Diarrea | Si | 213 (26.0) | 48 (29.6) | 165 (22.1) | 0.040 |
| | No | 696 (76.6) | 114 (70.4) | 582 (77.9) | |
| Dolor hipocondrio | Si | 240 (26.4) | 76 (46.9) | 164 (21.9) | < 0.001 |
| | No | 669 (53.1) | 86 (53.1) | 583 (78.1) | |
| Dispepsia | Si | 215 (23.7) | 35 (21.6) | 180 (24.1) | 0.499 |
| | No | 694 (76.3) | 127 (78.4) | 567 (75.9) | |
| Nausea/vómitos | Si | 175 (19.3) | 43 (26.5) | 132 (17.7) | 0.009 |
| | No | 734 (80.7) | 119 (73.5) | 615 (82.3) | |
| Nodulos SC* | Si | 26 (2.9) | 4 (2.5) | 22 (2.9) | 0.742 |
| | No | 883 (97.1) | 158 (97.5) | 725 (97.1) | |
| Rash | Si | 148 (16.0) | 29 (17.9) | 119 (15.9) | 0.538 |
| | No | 761 (83.7) | 133 (82.1) | 628 (84.1) | |
| Prurito | Si | 158 (17.0) | 33 (20.4) | 125 (16.7) | 0.268 |
| | No | 751 (82.6) | 129 (79.6) | 622 (83.3) | |
| Edema | Si | 64 (7.0) | 14 (8.6) | 50 (6.7) | 0.380 |
| | No | 845 (93.0) | 148 (91.4) | 697 (93.3) | |
| Dolor articular | Si | 203 (22.3) | 39 (24.1) | 164 (22.0) | 0.557 |
| | No | 706 (77.7) | 123 (75.9) | 583 (78.0) | |

*Nodulos SC = Nodulos sub cutáneos

En el análisis de Chi cuadrado, síntomas como la cefalea, ictericia, fatiga y/o astenia, anorexia, silbido de pecho, falta de aire, diarrea, dolor en hipocondrio derecho, náuseas y vómitos, fueron significativamente más frecuentes entre los niños con fascioliasis crónica que entre los casos negativos, todos estos síntomas fueron seleccionados para el análisis de regresión logística (Figura 10).

Fig. 10. Características clínicas niños con y sin Fasciola



Al realizar la regresión logística de los síntomas mencionados, y con la prueba exacta de Fisher, se encontró que el dolor abdominal en hipocondrio derecho ($p<0.001$) y la fatiga ($p<0.009$) mostraron relación con la presencia de fascioliasis crónica en los niños en la comunidad. Estos dos síntomas fueron incluidos posteriormente en el modelo final probado. No se encontraron otras asociaciones importantes con el resto de los síntomas.

La prevalencia total de anemia en la población estudiada fue de 7.9%. La anemia fue levemente menor entre los casos de fascioliasis crónica que entre los casos negativos (7.4% vs. 7.9%; $p=0.819$), tabla 4.

Tabla 4. Anemia en la población de estudio N = 905*

| Anemia | Total | <i>F. hepatica</i> | | <i>p</i> |
|--------|------------|-----------------------------------|------------------------|----------|
| | | Fascioliasis crónica n=162 (%) | Negativos n=743 (%) | |
| Si | 71 (7.9) | 12 (7.4) | 59 (7.9) | 0.819 |
| No | 834 (91.2) | 150 (92.6) | 684 (92.1) | |

* Algunos valores fueron indetectables

El valor promedio de hemoglobina fue levemente mayor entre los casos de fascioliasis crónica (15.3 g/dL \pm 1.1) que entre los casos negativos (15.1 g/dL \pm 1.1), permaneciendo esta diferencia luego de ajustar los valores de hemoglobina usando las fórmulas de la CDC, obteniendo también valores levemente mayores de la hemoglobina corregida entre los casos de fascioliasis crónica (13 g/dL \pm 1.1) que entre los casos negativos (12.7 g/dL \pm 1.5). Los resultados de las pruebas de laboratorio se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados de pruebas de laboratorio en sangre N= 909

| Prueba | <i>F. hepatica</i> | | Curva ROC | | | |
|--|--|-----------------------------------|-----------------------|------------|------------|------|
| | Fascioliasis crónica n=162 Media \pm SD | Negativos n=747 Media \pm SD | Punto de corte óptimo | <i>Sen</i> | <i>Esp</i> | AUC |
| Hemograma | | | | | | |
| Hematocrito % | 44.5 \pm 3.2 | 44.1 \pm 3.3 | 44.15 | 0.57 | 0.52 | 0.55 |
| Hemoglobina g/dL | 15.3 \pm 1.1 | 15.1 \pm 1.1 | 16.45 | 0.16 | 0.91 | 0.54 |
| Hemoglobina corregida g/dL | 13.0 \pm 1.1 | 12.7 \pm 1.5 | 14.11 | 0.16 | 0.91 | 0.54 |
| Globulos rojos 10 ³ /mm ³ | 5.1 \pm 0.3 | 5.1 \pm 0.3 | 5.14 | 0.47 | 0.60 | 0.53 |
| Leucocitos % | 7.4 \pm 1.9 | 7.2 \pm 1.9 | 8.48 | 0.30 | 0.70 | 0.54 |
| Neutrofilos % | 52.7 \pm 10.5 | 52.6 \pm 9.4 | 57.65 | 0.34 | 0.71 | 0.53 |
| Eosinófilos % | 5.0 \pm 3.8 | 3.0 \pm 2.2 | 2.45 | 0.84 | 0.52 | 0.68 |
| Monocitos % | 3.1 \pm 1.4 | 3.2 \pm 1.5 | 4.05 | 0.20 | 0.80 | 0.50 |
| Linfocitos % | 2.8 \pm 0.7 | 2.9 \pm 0.8 | 2.04 | 0.88 | 0.14 | 0.51 |
| Basofilos % | 0.3 \pm 0.2 | 0.3 \pm 0.2 | 0.35 | 0.44 | 0.62 | 0.53 |
| Plaquetas (PLT) 10 ³ /mm ³ | 340 \pm 65.2 | 342 \pm 73.0 | 235.5 | 1.00 | 0.05 | 0.53 |
| Plaquetocrito (PCT) % | 0.3 \pm 0.4 | 0.3 \pm 0.5 | 0.22 | 0.97 | 0.07 | 0.52 |
| Bioquímica sanguínea | | | | | | |
| TGO U/L | 28.3 \pm 44.6 | 25.8 \pm 7.4 | 47.5 | 0.02 | 0.99 | 0.51 |
| TGP U/L | 21.4 \pm 78.1 | 15.4 \pm 6.8 | 12.5 | 0.72 | 0.32 | 0.52 |
| Hierro μ g/dL | 87.8 \pm 28.1 | 84.4 \pm 34.9 | 82.45 | 0.60 | 0.51 | 0.56 |

Leyenda: SD = Desviación estandar; Sen= Sensibilidad; Esp= Especificidad; AUC= Area bajo la curva

En el análisis de las pruebas de laboratorio con curva ROC, se encontró que la eosinofilia en los casos de fascioliasis crónica tenía una sensibilidad de 84%. A pesar de que los valores de los linfocitos y plaquetas mostraron sensibilidades de 88% y 100% respectivamente, al evaluar su especificidad mostraron una tendencia diferente (14% y 5% respectivamente), situación similar ocurrió con la medición del plaquetocrito, sensibilidad de 97% y especificidad de 7% (Tabla 5).

En el análisis de Chi cuadrado de las pruebas de laboratorio, se encontró que el hematocrito ($p=0.038$), hemoglobina ($p=0.008$), hemoglobina corregida ($p=0.004$), leucocitos ($p=0.0043$), eosinófilos ($p=0.001$), y plaquetas ($p=0.003$) presentaron valores incrementados en los casos de fascioliasis crónica frente a los casos negativos (Tabla 6). Los valores sanguíneos de hierro no demostraron diferencias significativas al compararlos entre ambos grupos.

Tabla 6. Pruebas de laboratorio en sangre N= 909*

| Prueba / Punto de corte óptimo referencial | <i>F. hepatica</i> | | <i>p</i> |
|--|---------------------------------|--------------------|----------|
| | Fasciolosis crónica n (%) | Negativos n (%) | |
| Hemograma | | | |
| Hematocrito % | | | |
| < 44.15 | 70/162 (43.2) | 390/747 (52.2) | 0.038 |
| ≥44.15 | 92/162 (56.8) | 357/747 (47.8) | |
| Hemoglobina g/dL | | | |
| < 16.45 | 136/162 (84.0) | 679/747 (90.9) | 0.008 |
| ≥16.45 | 26/162 (16.0) | 68/747 (9.1) | |
| Hemoglobina corregida g/dL | | | |
| < 14.11 | 136/162 (84.0) | 679/743 (91.4) | 0.004 |
| ≥14.11 | 26/162 (16.0) | 64/743 (8.6) | |
| Leucocitos % | | | |
| < 8.48 | 113/161 (70.2) | 577/743 (77.7) | 0.043 |
| ≥ 8.48 | 48/161 (29.8) | 166/743 (22.3) | |
| Eosinófilos % | | | |
| < 2.45 | 25/161 (15.5) | 386/743 (52.0) | < 0.001 |
| ≥ 2.45 | 136/161 (84.5) | 357/743 (48.0) | |
| Plaquetas (PLT) 10 ³ /mm ³ | | | |
| < 235.50 | - | 40/747 (5.4) | 0.003 |
| ≥ 235.50 | 162/162 (100) | 707/747 (94.6) | |
| Bioquímica sanguínea | | | |
| Hierro µg/dL | | | |
| < 82.45 | 64/162 (39.5) | 278/747 (37.2) | 0.585 |
| ≥ 82.45 | 98/162 (60.5) | 469/747 (62.8) | |

*Algunos valores fueron considerados indetectables

Las posibles combinaciones de los hallazgos clínicos en los modelos finales analizados se presentan en la Tabla 7, se consideraron como mejores modelos aquellos que presentaban menor cantidad de variables y con resultados de sensibilidad, especificidad y AUC altos.

Tabla 7. Modelos propuestos para detección de *F. hepatica* en la comunidad N= 909*

| Modelos | | Fasciola | | Fisher's exact test | Curva ROC | | |
|--|----------|----------------------|-----------------|---------------------|-----------|------|------|
| | | Fascioliasis crónica | Negativos n (%) | | Sen | Esp | AUC |
| Score1 | | | | | | | |
| Eosinofilia + Fatiga + DHD | Presente | 29 (85.3) | 23 (8.0) | < 0.001 | 0.85 | 0.92 | 0.89 |
| | Ausente | 5 (14.7) | 265(92.0) | | | | |
| Score2 | | | | | | | |
| Eosinofilia + Leucocitos + Fatiga + DHD | Presente | 8 (57.1) | 6 (42.9) | < 0.001 | 0.67 | 0.97 | 0.82 |
| | Ausente | 4 (2.0) | 198 (98.0) | | | | |
| Score3 | | | | | | | |
| Eosinofilia + Leucocitos + Hb corregida + Fatiga + DHD | Presente | 1 (100) | - | 0.027 | 0.67 | 0.97 | 0.82 |
| | Ausente | 4(2.2) | 181 (97.8) | | | | |
| Score4 | | | | | | | |
| Eosinofilia + HCT + Hb corregida + Fatiga + DHD | Presente | - | 1 (100) | 0.894 | - | 0.5 | 0.50 |
| | Ausente | 2 (1.7) | 112 (98.3) | | | | |
| Score5 | | | | | | | |
| Eosinofilia + HCT + Fatiga + DHD | Presente | 2 (1.4) | 137 (98.6) | < 0.001 | 0.89 | 0.92 | 0.90 |
| | Ausente | 16 (57.1) | 12 (42.8) | | | | |
| Score6 | | | | | | | |
| Eosinofilia + HCT + DHD | Presente | 33 (50.8) | 32 (49.2) | < 0.001 | 0.92 | 0.83 | 0.87 |
| | Ausente | 3 (1.9) | 156 (98.1) | | | | |
| Score7 | | | | | | | |
| Eosinofilia + PLT + Fatiga + DHD | Presente | 29 (58.0) | 21 (42.0) | < 0.001 | 1.00 | 0.40 | 0.70 |
| | Ausente | - | 14 (100) | | | | |

Legenda: DHD = Dolor hipocondrio derecho, Eosinofilia $\geq 2.45\%$, Leucocitos $< 8.48\%$, Hb corregida = Hemoglobina corregida $< 14.11\text{g/dL}$, HCT= Hematocrito $\geq 44.15\%$, PLT=Plaquetas $\geq 235.50 \times 10^3/\text{mm}^3$, Sen=Sensibilidad, Esp=Especificidad, AUC= Area bajo la curva

El modelo del Score 1, creado con la menor cantidad de variables laboratoriales (eosinofilia), mostró una sensibilidad y una especificidad alta para distinguir los casos de *F. hepatica* en niños en la comunidad.

El modelo del Score 5 que combina otra variable laboratorial (hematocrito $\geq 44.15\%$) mostró una sensibilidad del 89% para distinguir los casos positivos a *F. hepatica*.

Mientras que el modelo del Score 6 al conjugar solo una variable clínica con dos variables laboratoriales, mostró sensibilidad del 92% para identificar casos de fascioliasis crónica entre los niños.

Posteriormente, al realizar las pruebas de bondad de ajuste también se realizaron nuevas curvas ROC, y los scores 3 y 4 (Tabla 8) demostraron tener la mejor combinación de variables y los mejores valores de AIC y BIC, así como las mejores áreas debajo de la curva al evaluar y comparar los modelos propuestos (Tabla 8).

Tabla 8. Pruebas de bondad de ajuste en los modelos propuestos para detección de *F. hepatica*

| Modelos propuestos | AIC | BIC | Curva ROC AUC |
|--|------------|------------|--------------------------|
| Score1 | | | |
| Eosinofilia + Fatiga + DHD | 192.77 | 200.31 | 77.0 |
| Score2 | | | |
| Eosinofilia + Leucocitos + Fatiga + DHD | 73.41 | 80.16 | 77.6 |
| Score3 | | | |
| Eosinofilia + Leucocitos + Hb corregida + Fatiga + DHD | 7.00 | 6.61 | 98.9 |
| Score4 | | | |
| Eosinofilia + HCT + Hb corregida + Fatiga + DHD | 32.57 | 38.52 | 82.6 |
| Score5 | | | |
| Eosinofilia + HCT + Fatiga + DHD | 100.02 | 106.25 | 77.9 |
| Score6 | | | |
| Eosinofilia + HCT + DHD | 196.19 | 203.01 | 74.4 |
| Score7 | | | |
| Eosinofilia + PLT + Fatiga + DHD | 49.11 | 50.66 | 79.0 |

Leyenda: DHD = Dolor hipocondrio derecho, Eosinofilia $\geq 2.45\%$, Leucocitos $< 8.48\%$, Hb corregida = Hemoglobina corregida $< 14.11\text{g/dL}$, HCT= Hematocrito $\geq 44.15\%$, PLT=Plaquetas $\geq 235.50 \times 10^3/\text{mm}^3$, Sen=Sensibilidad, Esp=Especificidad, IC = Intervalo de Confianza, AUC= Area bajo la curva

Estos análisis permitieron determinar la ponderación de los eventos observados (Tabla 9) y así brindar una mayor sensibilidad para una adecuada determinación de casos positivos de *F. hepatica* en niños de la comunidad.

Tabla 9. Score propuesto para detección de *F. hepatica*

| Característica clínica o laboratorial | Valor | Coefficiente β | Puntaje |
|--|--------------|--|------------------------|
| Fatiga | 2.13 | 0.029*100 | 1 |
| Dolor en hipocondrio derecho | 2.71 | 0.029*100 | 1 |
| Hematocrito ≥ 44.15 % | 1.56 | 0.029*100 | 0.5 |
| Hemoglobina corregida < 14.11 g/dL | 1.88 | 0.025*100 | 0.5^v |
| Leucocitos < 8.48 % | 1.66 | 0.025*100 | 0.5^v |
| Eosinófilos ≥ 2.45 % † | 6.06 | 0.029*100 | 2 |
| Plaquetas $\geq 235.5 \times 10^3/\text{mm}^3$ | 1.00 | 0.025*100 | 0.5 |

Puntuación:

≥ 4 considerar presencia de *F. hepatica*

≤ 3.5 considerar otras patologías / parasitosis

† La presencia de eosinofilia es requerida para que el score pueda ser aplicable

‡ Estas variables entraron en los modelos principales pero se tomaron en cuenta otros antecedentes por ello se aproximaron a 0.5

* Se uso la constante 100 para evitar valores elevados para el puntaje

La presencia de eosinofilia es un requisito para el uso de este score, lo cual va acorde con la bibliografía existente sobre *F. hepatica*.

El score1 cuyas variables incluían la cantidad mínima de variables como son: eosinofilia, dolor en hipocondrio derecho y fatiga (= 4 puntos) tiene un AUC: 0.77 para la detección de los casos con fascioliasis crónica.

El score3 consigue 5 puntos y muestra un AUC de 98.9% y el modelo que incluyó variables como eosinofilia, hemoglobina corregida, hematocrito alterado, dolor en hipocondrio derecho y fatiga consigue también 5 puntos en el score propuesto, teniendo un AUC de 82.6%.

Para estas ponderaciones se tomó en consideración que el valor del hematocrito puede variar por factores externos a la infección por *F. hepatica* (hemoconcentración, altura, etc.), por esta razón se le asignó menor puntaje al hematocrito en el score general.

VI. DISCUSIÓN

Este estudio de tesis determinó, que la combinación de hallazgos clínicos que incluyen mínimamente el dolor abdominal en hipocondrio derecho, fatiga y eosinofilia ($\geq 2.45\%$), estuvieron presentes en los casos de fascioliasis crónica de los niños de la comunidad, con una alta sensibilidad y especificidad, permitiendo así su identificación mediante el uso del score propuesto en zonas endémicas.

Una vez validado el score desarrollado en el presente estudio de tesis, permitiría crear una herramienta básica para la sospecha y posterior diagnóstico de fascioliasis en la comunidad. El uso de pruebas laboratoriales básicas, que pueden realizarse en los centros de salud de menor complejidad de nuestro país permite la factibilidad de la validación propuesta. No hay reportes de otros scores clínicos – laboratoriales creados con esta finalidad.

Se han realizado pocos estudios sobre fascioliasis crónica basados en la comunidad, la mayoría de los estudios son reportes de casos de pacientes hospitalizados o el reporte de sus complicaciones (Marcos L, et al., 2002). Este estudio provee información sobre el hallazgo del parásito en la comunidad permitiendo la recolección de información y descripción de síntomas que habitualmente serían observables en un entorno hospitalario.

La prevalencia global hallada demostró ser semejante a otros estudios (Esteban JG, et al. 1999) realizados en zonas altoandinas y en las que se las catalogó como zonas meso o hiper endémicas. Según los grupos analizados para este estudio casi 2 de cada 10 niños presentaba fascioliasis crónica, siendo esta prevalencia semejante a otras descritas en el altiplano boliviano (Parkinson M, et al, 2007) donde se han

descrito prevalencias de 10 a 20%; sin embargo, se reporta regiones en las que su variación es tan amplia que va desde 3% a 68%.

En el presente estudio la prevalencia de la fascioliasis crónica solo tuvo una leve diferenciación entre los distritos de una misma provincia considerada meso o hiperendémica; aunque otros estudios describen como una característica epidemiológica de fascioliasis el reflejar una irregular distribución en una misma área geográfica, en la que sus prevalencias pueden variar ampliamente (Silva AEP, et al., 2020).

Se encontraron prevalencias semejantes respecto al sexo para ambos grupos, el de fascioliasis crónica y el de niños negativos, siendo las diferencias mínimas y no estadísticamente significativas (sexo femenino 50.6% vs. 52.3%; $p= 0.690$); otros estudios como el de Lopez M. et al. (2012) y el de El-Sahn F, et al. (1995), este último realizado en otra área geográfica, encontraron mayor prevalencia en el sexo femenino mismo que ha sido soportado también por diversas cohortes con mayor cantidad de pacientes pero que discrepa con el hallazgo de este estudio.

Respecto a la edad, en el presente estudio a semejanza de los resultados encontrados por otros grupos de investigación como Esteban *et al.* (1997), quienes refieren un pico de prevalencia en el grupo etario de 9 a 11 años, se halló mayor prevalencia de fascioliasis crónica en el grupo etario de 7 a 11 años $n=81/162$ (50%), aunque tampoco representa una diferencia significativa y no podemos aportar información respecto a grupos etarios de adultos dado que este estudio se enfocó en niños de la comunidad de 3 a 16 años. Sin embargo, está descrito que los adultos tienen una disminución en prevalencia de fascioliasis debido a que podrían continuar albergando las fasciolas adquiridas durante la juventud y estas pasan a estadios

crónicos, o son la consecuencia reciente de habitar una zona de alto riesgo de infección.

Sería esperable que los tratamientos antiparasitarios recibidos por los niños hicieran diferencia entre los grupos positivos y negativos para fascioliasis, evento que no sigue esta tendencia. Sin embargo, es importante mencionar que el único tratamiento recomendado por la OMS para fascioliasis es el Triclabendazol, medicamento poco accesible y que no está disponible a manera de venta libre. Morales et al, (2021) refieren que la cura parasitológica luego del primer tratamiento llega solo al 55% de los afectados y va decreciendo posteriormente, llegando a un 11.6% (n=17) de niños con fascioliasis que no llega a conseguir la cura parasitológica luego de 4 tratamientos.

Este estudio no encontró asociación significativa de los niños con fascioliasis crónica con anemia, lo cual discrepa con estudios como el de Lopez M. et al. (2012) que mencionan su asociación e importancia como parte de la carga de enfermedad que produce *F. hepatica* en la población infantil, además de la relevancia que cobran algunos de los síntomas descritos y también analizados en este estudio como la pérdida de peso, mismo que no fue estadísticamente significativo ni de mayor relevancia para ser considerado a entrar en los modelos planteados por este estudio. Sobre las presentaciones clínicas, este estudio se enfocó en la presentación de huevos de *F. hepatica* en heces o fascioliasis crónica, debido a que pocos síntomas son descritos habitualmente o mencionados en lo que se considera la fase aguda de la fascioliasis, mismos que no son motivo de investigación del presente estudio, y requieren un análisis particular. De otro lado, es importante mencionar que a pesar

de ser una parasitosis común la presentación clínica de *F. hepatica* es generalmente subclínica.

Estos resultados permiten analizar la fascioliasis desde el punto de vista clínico, respecto de los casos crónicos y coincidir con otros estudios que resaltaron en la presencia de síntomas algunos como el dolor en hipocondrio derecho, como uno de los síntomas persistentemente presentes en la infección, aquellos que describieron la sintomatología coinciden con mencionar como parte de sus hallazgos principales los referentes a los valores obtenidos de eosinófilos y hematocrito (Marcos Luis A, et al., 2005).

Desde su creación, el uso de la prueba de Fas2-ELISA aportó una gran sensibilidad en la detección de casos de fascioliasis (Espinoza JR, et al. 2007); a pesar de ello, la tecnología necesaria para realizar esta prueba es solo accesible en algunas ciudades y no resulta costo-efectiva. Por ello, el uso de esta prueba que cuenta con bastante sensibilidad y especificidad (26-29) ha sido relegada y no es de uso habitual en las zonas hiperendémicas, que son también generalmente las zonas más pobres o menos favorecidas.

Los valores de hematocrito, hemoglobina corregida, eosinofilia, leucocitos y plaquetas sugeridos en el score propuesto pueden ser fácilmente obtenidos en un hemograma completo en cualquier centro de salud de baja complejidad. Esta propuesta apunta a usar los recursos disponibles entre las poblaciones que viven en mayor pobreza dado que es donde fascioliasis tiene altas tasas de incidencia.

El score propuesto incluye síntomas como fatiga, dolor en hipocondrio derecho y parámetros laboratoriales alterados, representan variables que además tienen plausibilidad biológica por la ubicación habitual del parásito en el cuerpo humano

y las consecuencias del proceso inflamatorio crónico que su migración conlleva. Los parámetros laboratoriales especialmente la alteración en los valores de eosinófilos han sido descritos como hallazgo habitual entre los pacientes con fascioliasis en la literatura existente (Marcos L., et al, 2002), así mismo estas alteraciones son consideradas de importancia por los expertos en el tema.

La validación de este score ayudaría a propagar su uso en zonas endémicas y facilitar la sospecha clínica en *F. hepatica*, esto con la finalidad de usarlo para prevenir las complicaciones a largo plazo que múltiples estudios describen (Marcos Luis A., et al, 2005). Los estudios revisados coinciden en fascioliasis es un importante problema de salud pública en varios países, principalmente afectando a las poblaciones infantiles, en quienes la carga de enfermedad es mayor alterando su crecimiento y desarrollo, sospechándose adicionalmente de algún grado de daño cognitivo (Lopez M., et al., 2012).

Finalmente, en base al razonamiento clínico y analítico, se sugiere la aplicación en un estudio piloto y posterior validación del score propuesto en poblaciones endémicas, dado que esta combinación de hallazgos clínicos ponderada permitiría la sospecha y/o identificación de fascioliasis en la comunidad.

VII. CONCLUSIONES

- Los niños con fascioliasis crónica tienen características que permiten su identificación en comunidades endémicas, presentando mayor probabilidad de síntomas como dolor en hipocondrio derecho, fatiga y alteraciones laboratoriales principalmente eosinofilia.
- La eosinofilia es una característica importante presente en casos de fascioliasis crónica de niños en la comunidad. Así mismo, se encontró mayor probabilidad de alteraciones en los valores del hematocrito, hemoglobina, leucocitos y plaquetas en los niños afectados por fascioliasis.
- El score propuesto en el presente estudio presenta la combinación de un componente clínico y laboratorial. El dolor en hipocondrio derecho, fatiga, y eosinofilia darían una mayor probabilidad para distinguir entre casos de fascioliasis crónica con una alta sensibilidad y especificidad entre los niños de la comunidad.
- No se encontraron diferencias significativas de afectación por sexo, edad o distrito del cual provenían los casos de fascioliasis crónica. Los niños con *F. hepatica* presentaron con mayor probabilidad el antecedente de historia de enfermedad diarreica o respiratoria en los últimos 12 meses.

VIII. RECOMENDACIONES

- ✓ Evaluación en campo del score propuesto. Realizar un estudio piloto en zonas endémicas para validar el score propuesto, realizando la búsqueda activa de casos.
- ✓ Se recomienda al menos una visita de evaluación médica y la realización de un hemograma anual concomitante en la población infantil de las zonas endémicas.
- ✓ La referencia de síntomas como dolor en hipocondrio derecho, fatiga, cefalea, anorexia, ictericia, diarrea, náusea / vómitos, falta de aire y silbido de pecho por niños en edad escolar debe orientar al personal de salud en la búsqueda no solo de fascioliasis sino de otras parasitosis.
- ✓ La prevalencia de *F. hepatica* encontrada en este estudio, apoya la premisa que la situación real de la fascioliasis a en nuestro país es subestimada y aunque las estadísticas del Ministerio de Salud no lo reflejen es un problema de salud pública en las zonas endémicas donde su manejo y seguimiento deben ser considerados prioritarios.
- ✓ Incentivar a las facultades de Veterinaria de nuestro país a realizar estudios sobre la situación de la fascioliasis animal, principalmente en el ganado vacuno y caprino de las zonas endémicas conocidas.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mas-Coma S, Mas-Coma S. Epidemiology of fascioliasis in human endemic areas. *Journal of Helminthology* [Internet]. 2005;79(3):207–16. Available from: http://journals.cambridge.org/abstract_S0022149X05000314.
2. Fürst T, Keiser J, Utzinger J. Global burden of human food-borne trematodiasis: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2012;12(3):210-221.
3. Marcos L, Terashima A, Leguia G, Canales M, Espinoza J, Gotuzzo E. La infección por *Fasciola hepatica* en el Perú: una enfermedad emergente. *Revista de Gastroenterología de Perú* [Internet]. 2007(27):389–96. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102251292007000400008.
4. Ashrafi K, Bargues MD, O’Neill S, Mas-Coma S. Fascioliasis: A worldwide parasitic disease of importance in travel medicine. *Trav Med Inf Dis*. 2014; 12(6):636-649.
5. Espinoza JR, Terashima A, Herrera-Velit P, Marcos La fasciolosis humana y animal en el Perú: Impacto en la economía de las zonas endémicas. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2010;27(4):604–12.
6. Hotez PJ. Global urbanization and the neglected tropical diseases. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017; 11(2): e0005308 <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005308>.
7. Report of the WHO Expert Consultation on Foodborne Trematode Infections and Taeniasis / Cysticercosis. 2009;(October).
8. Delgado NU. Fasciolosis, zoonosis emergente y reemergente vista desde una dimensión ambiental (Revisión). 2013;56:1–10. ISSN-e 1317-987X,

9. Report of the WHO Expert Consultation on Foodborne Trematode Infections and Taeniasis/ Cysticercosis OMS. WHO_TRS_666_(part1). 1981.
10. Marcos L, Maco V, Samalvides F, Terashima A, Espinoza JR, Gotuzzo E. Risk factors for *Fasciola hepatica* infection in children: A case-control study. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006;100(2):158–66.
11. Mas-Coma S, Funatsu IR, Bargues MD. *Fasciola hepatica* and lymnaeid snails occurring at very high altitude in South America. *Parasitology.* 2001;123 Suppl (07):S115–27.
12. Aruni J. Fasciolosis en niños de regiones endémicas del Norte Altiplánico de Departamento de La Paz, Bolivia, postintervención masiva con triclabendazol: diagnóstico, tratamiento, eficacia y seguimiento Fasciolosis en niños de regiones endémicas del Norte Alt. [Tesis de Maestría en internet] Universidad Mayor de San Andrés 2015; Recuperado a partir de: <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/10463>
13. Parkinson M, O'Neill SM, Dalton JP. Endemic human fasciolosis in the Bolivian Altiplano. *Epidemiol Infect.* 2007; 135:669–674.
14. Villegas F, Angles R, Barrientos R, Barrios G, Valero MA, Hamed K, et al. Administration of Triclabendazole Is Safe and Effective in Controlling Fascioliasis in an Endemic Community of the Bolivian Altiplano. *PLoS Neglected Tropical Diseases.* 2012;6(8).
15. Esteban JG, Flores A, Angles R, Mas-Coma S. High endemicity of human fascioliasis between Lake Titicaca and La Paz valley, Bolivia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1999 (93) 151 –6. 10.1016/S0035-9203(99)90289-4

16. Esteban JG, Flores A, Aguirre C, Strauss W, Angles R, Mas-Coma S. Presence of very high prevalence and intensity of infection with *Fasciola hepatica* among Aymara children from the Northern Bolivian Altiplano. *Acta Tropica*. 1997 Jun 24;66(1):1–14.
17. Karadağ-Öncel E, Özsürekcı Y, Özkaya-Parlakay A, Çelik M, Cengiz AB, Halilođlu M, et al. *Fasciola hepatica* infection: clinical and radiological findings in pediatric patients. *The Turk J of Ped*. 2012; (54); 362-367
18. Marcos L, Maco V, Terashima A. Características clínicas de la infección crónica por *Fasciola hepatica* en niños. *Rev Gastroenterol Perú*. 2002; (3).
19. Marcos Luis A, Maco Vicente, Castillo Maria, Terashima Angélica, Zerpa Rito GEduardo. Reporte de casos de Fasciolosis en el Instituto Especializado de Salud del Niño, Lima - Perú (1988-2003). *Rev gastroenterol Perú*. 2005;25 (2):198-205.
20. Zumaquero-Ríos JL, Sarracent-Pérez J, Rojas-García R, Rojas-Rivero L, Martínez-Tovilla Y, Valero MA, et al. Fascioliasis and Intestinal Parasitoses Affecting Schoolchildren in Atlixco, Puebla State, Mexico: Epidemiology and Treatment with Nitazoxanide. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2013;7(11).
21. Lopez M, White AC, Cabada MM. Burden of *Fasciola hepatica* infection among children from Paucartambo in Cusco, Peru. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2012;86(3):481–5.
22. Sakru N, Korkmaz M, Demirci M, Kuman A, Ok UZ. *Fasciola hepatica* infection in echinococcosis suspected cases. *Türkiye parazitolojii dergisi / Türkiye Parazitoloji Derneđi = Acta parasitológica Turcica / Turkish Society for Parasitology*. 2011;35(2):77–80.

23. Valdivia L, Bejar V, Cordova E, Liu M, Neira M, Vasquez L LJH. Fascioliasis in the Anta district (Cuzco). *Acta Medica Agustina*. 1990;(1):55–61.
24. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Publicaciones Digitales. Libro 1292. https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1292/libro.pdf
25. Bejar-Bravo V MY. Fasciolosis y prevalencia de enteroparasitosis en la comunidad de Kuramba, Provincia de Anta – Cusco 2006. [Abstract]. *Revista Peruana de Parasitología*. 2008;(17):58.
26. Espinoza JR, Timoteo O, Herrera-Velit P. Fas2-ELISA in the detection of human infection by *Fasciola hepatica*. *J Helminthol*. 2005;79(3):235–40.
27. Espinoza JR, Maco V, Marcos L, Saez S, Neyra V, Terashima A, et al. Evaluation of Fas2-ELISA for the serological detection of *Fasciola hepatica* infection in humans. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2007;76(5):977–82.
28. Maco Flores V, Marcos Raymundo L, Terashima Iwashita A, Samalvides Cuba F, Miranda Sánchez E, Espinoza Babilon J, et al. Fas2-ELISA y la técnica de sedimentación rápida modificada por lumbreras en el diagnóstico de la infección por *Fasciola*. *Rev Med Hered*. 2002;13(2):49–57.
29. Neyra V, Chavarry E, Espinoza JR. Cysteine proteinases Fas1 and Fas2 are diagnostic markers for *Fasciola hepatica* infection in alpacas (*Lama pacos*). *Veterinary Parasitology*. 2002;105(1):21–32. 189301_RM_N_C2_B0479-2017-2017.PDF20180823-24725-10stlhy.
30. Morales, M. L., Tanabe, M. B., White Jr, A. C., Lopez, M., Bascope, R., & Cabada, M. M. (2021). Triclabendazole Treatment Failure for *Fasciola hepatica* Infection

among Preschool and School-Age Children, Cusco, Peru. *Emerging infectious diseases*, 27(7), 1850.

31. Silva AEP, Freitas CDC, Dutra LV, Molento MB. Correlation between climate data and land altitude for *Fasciola hepatica* infection in cattle in Santa Catarina, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2020;29(3): e008520. doi:10.1590/s1984-2961202006552.

X. ANEXOS

10. 1 Anexo 1: Instrumento(s) de recolección de los datos

Formato de Enrolamiento

| | |
|----------------------------------|---|
| Demografía: (especifique) | |
| Comunidad: | Distrito: |
| Institución: | Año: _____ () PRONOI () jardín () primaria () secundaria |

| | | |
|------|--------------|---------------|
| Sexo | () Femenino | () Masculino |
|------|--------------|---------------|

| | | |
|--|----------------------------------|-------------------------------|
| Síntomas en los últimos 3 meses: (marque) | | |
| () Fiebre | () Cefalea | () Ictericia |
| () Baja de peso | () Fatiga/astenia | () Anorexia/falta de apetito |
| () Tos | () Silbido de pecho | () Falta de aire |
| () Diarrea | () Dolor en hipocondrio derecho | () Dispepsia/indigestión |
| () Nausea/vómitos | () Nódulos subcutáneos | () Urticaria/rash |
| () Prurito | () Edema de tobillos | () Dolor articular |
| () Otro: | | |

| | |
|--|-----|
| Historia médica: (especifique) | |
| Enfermedades pasadas: | |
| Número de episodios de diarrea en los últimos 12 meses: | () |
| Número de infecciones respiratorias en los últimos 12 meses: | () |

| | | |
|-----------------------------|-------------------------------|-----------------|
| Vacunación: (marque) | | |
| () DPT | () DPT + HBV + Hib | () Anti-Polio |
| () Rotavirus | () Sarampión/paperas/rubeola | () Pneumococco |
| () HBV | () BCG | () Hib |

| | | |
|---|--------|--------|
| El niño recibió tratamiento para anemia en los últimos 3 meses? | () Si | () No |
| El niño recibió tratamiento para desnutrición en los últimos 3 meses? | () Si | () No |
| El niño recibió tratamiento para parásitos en los últimos 3 meses? | () Si | () No |

| Examen físico: (marque) | | |
|--|---|---|
| Peso: | Talla #1: | Talla #2 |
| <input type="checkbox"/> Palidez | <input type="checkbox"/> Rash | <input type="checkbox"/> Ictericia de piel/escleras |
| <input type="checkbox"/> Boquera | <input type="checkbox"/> Telangiectasias | <input type="checkbox"/> Úlceras orales |
| <input type="checkbox"/> Masa cervical | <input type="checkbox"/> Ganglios cervical | <input type="checkbox"/> Nódulos subcutáneos |
| <input type="checkbox"/> Hígado palpable | <input type="checkbox"/> Hinchazón de abdomen | <input type="checkbox"/> Edema |
| <input type="checkbox"/> Otro: | | |

| |
|------------------------------------|
| Referencias para llegar a su casa: |
|------------------------------------|

| Muestras: (marque) | | |
|--|--|--|
| <input type="checkbox"/> Muestra de sangre | <input type="checkbox"/> Muestra de heces #1 | <input type="checkbox"/> Muestra de heces #2 |
| | | <input type="checkbox"/> Muestra de heces #3 |
| Comentarios: | | |

Formato de visita domiciliaria

| Composición del hogar (marque o especifique) | |
|--|--|
| Número de familias viviendo en la casa | () |
| Núcleo familiar: | |
| Padre <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No | Edad () Años de escuela () |
| Madre <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No | Edad () Años de escuela () |
| Hermanos <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No | Número (sin incluir al participante) () |
| Hermanas <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No | Número (sin incluir al participante) () |
| Otro: | |
| Número total de familiares viviendo en la casa | () |
| ¿Cuántos hermanos y hermanas mayores tiene el participante? | () |

| Socio-económico (marque o especifique) | |
|---|-----|
| ¿Cuánto dinero ganaron como familia en el último mes? (aproximado en soles) | () |
| ¿Cuál fue el ingreso promedio mensual de la familia en los últimos 6 meses? | () |
| ¿Cuál es el principal material de construcción de la casa? | () |
| ¿Cuál es el número de habitaciones en la casa? | () |

| | |
|---------------------------------------|---|
| ¿El niño tiene seguro de salud (SIS)? | <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No |
|---------------------------------------|---|

| | | | |
|--|-----|----------|-----|
| ¿Cuántos de estos animales tiene la familia? | | | |
| Vacas | () | Ovejas | () |
| Caballos | () | Burros | () |
| | | Chanchos | () |
| | | Cabras | () |

| | | |
|--|---------------------|-------------|
| Salubridad: Agua (marque o especifique) | | |
| Fuente de agua para consumo | | |
| () Entubada (reservorio) | () Pozo | () Puquial |
| () Canal de regadío | () Pantano/humedal | () Rio |
| Otro: | | |

| | | |
|---------------------------------------|------------|-----------|
| ¿Trata el agua para tomar? | () Si | () No |
| Que usa para tratar el agua que toma? | () Hierve | () Cloro |
| | () Filtro | () lodo |
| Otro: | | |

| | | |
|--------------------------------------|---------------------|-----------------------|
| Salubridad: Excretas (marque) | | |
| ¿En dónde defeca? | | |
| () Hueco en la tierra | () Letrina de pozo | () Letrina Mejorada |
| () En el campo | () Tanque séptico | () Desagüe municipal |
| Otro: | | |

| | | |
|---|--------|--------|
| Nutrición (marque o especifique) | | |
| ¿Su niño tomó desayuno esta mañana? | () Si | () No |
| ¿Su niño cenó anoche? | () Si | () No |

| |
|--|
| Módulo de consumo de alimentos de la FAO: Calidad/Cantidad |
| Me gustaría preguntarle sobre todas las diferentes comidas que los miembros de su hogar han comido en los últimos 7 días. Por favor, dígame usted en cuantos días de la semana pasada su familia comió los siguientes alimentos? (Para cada alimento consumido en la última semana, preguntar cuál fue la fuente primaria? y si la hubo, cuál fue la fuente secundaria?) |

| Alimento | Número de días en que comió en la última semana (0-7 días) | Fuente del alimento (ver los códigos abajo) | |
|--|--|---|------------|
| | | Primaria | Secundaria |
| #.1 – Maíz ----- | () | () | () |
| #.2 – Arroz ----- | () | () | () |
| #.3 – Pan/trigo ----- | () | () | () |
| #.4 – Tubérculos (papa, camote, lajas, etc.) | () | () | () |

| | | | |
|---|---|-----|-----|
| #.5 – Nueces & maní ----- | () | () | () |
| #.6 - Mashua, canigua, maca (principal o añadido) | () | () | () |
| #.7 - Quinoa, quiwicha (principal o añadido) --- | () | () | () |
| #.8 – Pescado (comido como alimento principal) --- | () | () | () |
| #.9 – Pescado seco ----- | () | () | () |
| #.10 – Carne roja (oveja/cabra/res/chancho) | () | () | () |
| #.11 – Carne blanca (aves) ----- | () | () | () |
| #.12 – Aceite vegetal, manteca, margarina ----- | () | () | () |
| #.13 – Huevos ----- | () | () | () |
| #.15 – Leche, queso, yogurt, nata (principal/añadido) | () | () | () |
| #.16 – Vegetales (incluyendo hojas) ----- | () | () | () |
| #.17 – Frutas ----- | () | () | () |
| #.18 – Dulces/azúcar ----- | () | () | () |
| Códigos para la fuente de alimentos: | Comprado =1, Producido en casa =2 Intercambio bienes/servicios, trueque =3 Prestado = 4 Regalado= 5 Programa de asistencia alimentaria =6 Otro (especificar) =7 | | |

Información geográfica

Datos del hogar

| | | | |
|---|-----|----------|-----|
| Coordenadas GPS de la casa: | () | Altitud: | () |
| Si estuviese fuera de la casa | | | |
| Coordenadas GPS de fuente de agua: | () | Altitud: | () |
| Coordenadas GPS del sitio donde defeca: | () | Altitud: | () |

Muestreo ambiental de agua

| | | | | | | | | | |
|----------------------------|------------------------|-------------|-----|---|--|--|--|--|--|
| Tipo de fuente de agua #1: | Código del laboratorio | A | F | h | | | | | |
| () Entubada (reservorio) | () Pozo | () Puquial | | | | | | | |
| () Canal de regadío | () Pantano/humedal | () Rio | | | | | | | |
| Otro: | | | | | | | | | |
| Coordenadas GPS #1 | () | Altitud#1: | () | | | | | | |

| | | | | | | | | | |
|----------------------------|------------------------|-------------|-----|---|--|--|--|--|--|
| Tipo de fuente de agua #2: | Código del laboratorio | A | F | h | | | | | |
| () Entubada (reservorio) | () Pozo | () Puquial | | | | | | | |
| () Canal de regadío | () Pantano/humedal | () Rio | | | | | | | |
| Otro: | | | | | | | | | |
| Coordenadas GPS #2: | () | Altitud#2: | () | | | | | | |

Muestreo ambiental de bosta animal

| | | | | | | | | | |
|--------------------|------------------------|-------------|-----|---|--|--|--|--|--|
| Muestra #1 | Código del laboratorio | A | F | h | | | | | |
| Vaca () | Oveja () | Chancho () | | | | | | | |
| Caballo () | Burro () | Cabra () | | | | | | | |
| Coordenadas GPS #1 | () | Altitud#1: | () | | | | | | |

| | | | | | | | | | |
|--------------------|------------------------|-------------|-----|---|--|--|--|--|--|
| Muestra #2 | Código del laboratorio | A | F | h | | | | | |
| Vaca () | Oveja () | Chancho () | | | | | | | |
| Caballo () | Burro () | Cabra () | | | | | | | |
| Coordenadas GPS #2 | () | Altitud#2: | () | | | | | | |

| | | | | | | | | | |
|--------------------|------------------------|-------------|-----|---|--|--|--|--|--|
| Muestra #3 | Código del laboratorio | A | F | h | | | | | |
| Vaca () | Oveja () | Chancho () | | | | | | | |
| Caballo () | Burro () | Cabra () | | | | | | | |
| Coordenadas GPS #3 | () | Altitud#3: | () | | | | | | |

| | | | | | | | | | |
|--------------------|------------------------|-------------|-----|---|--|--|--|--|--|
| Muestra #4 | Código del laboratorio | A | F | h | | | | | |
| Vaca () | Oveja () | Chancho () | | | | | | | |
| Caballo () | Burro () | Cabra () | | | | | | | |
| Coordenadas GPS #4 | () | Altitud#4: | () | | | | | | |

10.2 Anexo 2: Aprobación ética previa

Este estudio se realizó en concordancia con las buenas prácticas clínicas requeridas por:

- U.S. Code of Federal Regulations applicable to clinical studies (45 CFR 46)
- Completion of Human Subjects Protection Training
- Directiva N° 003-INS/OGITT-V0.1 del Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud del Perú
- Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia

10.3 Anexo 3: Consentimiento informado, asentimiento informado y/u hoja informativa

Transversal/Cohorte: Consentimiento para Autorizar la Participación de un Niño en un Estudio

Se le está pidiendo que autorice la participación de su hijo(a) en un estudio de investigación titulado: "El Impacto de la Fascioliasis en Niños del Altiplano Peruano"

Antes de aceptar, el investigador o un personal del estudio autorizado tiene que decirle sobre (i) el propósito, los procedimientos, y la duración del estudio; (ii) cualquier riesgo, incomodidad, o beneficio que razonablemente se pueda anticipar; (iii) cualquier procedimiento o tratamiento alternativo que pudiera ser de beneficio; y (iv) como se preservara la confidencialidad de los datos recolectados.

Si es aplicable, el investigador o su representante autorizado debe explicarle sobre (i) cualquier compensación o tratamiento médico disponible en caso de lesión; (ii) cualquier gasto que le pudiera generar el estudio; (iii) lo que pasaría si usted decide que su hijo(a) se retire del estudio; (iv) cuando se le informara sobre los resultados de laboratorio y del estudio; y (v) cuantos niños participarán en el estudio.

Si usted acepta que su hijo(a) participe deberá recibir una copia firmada de este documento y un resumen escrito del estudio.

Si tuviera alguna pregunta sobre el estudio, usted puede llamar en cualquier momento al Dr. Miguel M Capaco, investigador principal, al número de teléfono: 954 506 444.

Si tuviera preguntas sobre los derechos de su hijo(a) como participante del estudio o que hacer si su hijo(a) sufrió una lesión, puede llamar al Dr. Fredy Canchihuaman, presidente del Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia al teléfono (01) 319 0000.

La participación de su hijo(a) en este estudio es voluntaria y ni usted ni su hijo serán penalizados o perderán sus derechos si deciden no participar o retirarse del estudio.

Su firma o huella digital en este documento significa que el estudio, incluyendo la información en esta hoja, y la necesidad de guardar las muestras de su hijo(a) le han sido desonadas verbalmente y que usted decide voluntariamente autorizar la participación de su hijo(a) y que se almacenen sus muestras por 10 años.

Autorizo la participación de mi hijo(a) en este estudio: SI NO

Autorizo que se guarden las muestras de mi hijo(a) para uso futuro: SI NO

Firma del padre/ madre/apoderado Fecha

Firma del testigo Fecha

Firma del que obtuvo el consentimiento Fecha

**Dos copias de este documento deben ser firmadas por las personas mencionadas arriba.

***Una copia de este documento debe darse al padre/madre/apoderado.



APROBADO

[Signature] 24/10/2013

Transversal: Guion para asentimiento de niños menores de 12 años de edad

Hola _____, mi nombre es _____, estamos haciendo un estudio para saber si tú o tus compañeros de clase están infectados con un gusano llamado Fasciola. También para saber los problemas para tu salud causados por este gusano. Queremos saber si los niños como tú que puedan haber sido infectados con gusanos durante mucho tiempo son más propensos a contraer enfermedades que pueden afectar su desarrollo.

Enfermedades que afectan tu desarrollo pueden influir en la manera como te sientes y como te va en el colegio. Los niños desarrollan estas enfermedades por no comer bien y por estar infectados con gusanos.

Si decides participar en el estudio haremos a tus padres algunas preguntas sobre ti, tu familia, tu casa y la forma en que vives. Te haremos un examen físico y visitaremos tu casa. Tomaremos una pequeña muestra de sangre del brazo y también te pediremos caca para ver si tienes gusanos en tu cuerpo.

La muestra de sangre puede doler un poco y podrias tener un moretón que se iría en pocos días. Aunque es muy raro, podrias tener una infección en la piel de donde toman la muestra. No creemos que recolectar caca tenga algún riesgo para tu salud.

Ni tu ni tus padres tendrá que gastar dinero para participar en el estudio. Todas las pruebas que haremos en el estudio son gratis y tu no recibirás dinero u otros incentivos para participar. Sin embargo, tendrás la satisfacción de ayudar a la ciencia para tener una mejor comprensión sobre las enfermedades que afectan la salud en tu comunidad, este conocimiento puede ayudar a mantener saludables a los niños en el futuro.

No tienes que participar en este estudio la participación es voluntaria. Si decides no participar, no habrá ningún cambio en tu casa o la escuela. Tu podrás ir a la posta a ver a tu medico aunque decidas no participar. Puedes negarte a participar incluso si sus padres autorizaron tu participación en el estudio.

Nos gustaría guardar las sobras de sus muestras para estudios futuros.

Nombre del testigo fecha:

Nombre del trabajador investigador/campo Fecha



APROBADO
Fecha: 23/10/2013

Cohorte: Guion para asentimiento de niños de 12 a 17 años de edad

(Nombre) _____, te invitamos a participar en la fase de seguimiento del estudio "El impacto de la fascioliasis en niños del altiplano peruano", patrocinado por Universidad Peruana Cayetano Heredia. Estamos llevando haciendo la fase de seguimiento del estudio para saber cuan a menudo los niños como tú o tus compañeros persisten teniendo anemia, desnutrición, e infecciones por gusanos como Fasciola a pesar del tratamiento y cuales son los posibles mecanismos para la persistencia de estas enfermedades. Tu participación en este estudio es completamente voluntaria.

Si aceptas participar en el estudio de seguimiento, te evaluaremos 3 veces más en los próximos 2 años. Las evaluaciones serán programadas 3 meses, 1 año y 2 años después de que vimos inicialmente. Cada evaluación incluirá:

1. Cuestionarios acerca de tu salud.
2. Una evaluación médica, incluyendo la medición de tu altura y peso.
3. Una pequeña muestra de sangre de 5 mL (aproximadamente una cucharadita) obtenida del brazo o dedo para buscar anemia, inflamación, desnutrición y diagnosticar Fasciola.
4. Tres muestras de caca en días consecutivos para buscar Fasciola y otros gusanos.

La extracción de sangre del brazo puede causar dolor leve y puede producir un moretón que desaparecerá en pocos días. También hay un leve riesgo de infección en el área donde se extrae la sangre. No anticipamos riesgos al recolectar las heces.

Tú te beneficiarás del seguimiento clínico y de laboratorio para evaluar si te curaste de la infección por Fasciola y otros gusanos, anemia y desnutrición después del tratamiento. La mayoría de las pruebas que vamos a utilizar no se realizan en el área donde vives y estarán disponibles para ti a través del estudio. Te referiremos a médicos en el centro de salud cercano a tu casa para recibir tratamiento si es necesario. Todas las evaluaciones en el estudio de seguimiento son completamente libres de costos para ti y tus padres.

Tus papas no pagaran nada por tu participación en el estudio de seguimiento y tampoco recibirán incentivos o dinero por participar. Tendrás la satisfacción de colaborar a una mejor comprensión de las enfermedades causadas por Fasciola y otros gusanos en tu comunidad, lo que podría ayudar a prevenir estas infecciones.

Toda la información que tú o tus padres nos den será confidencial. Ninguno de los formatos de estudio tendrá nombre, tú sólo serás identificado por un número para proteger su identidad. No se mostrará su información a otras personas y sólo el personal autorizado tendrá acceso a ella.

Si decides participar en este estudio, podrás retirarte de él en cualquier momento o decidir no participar en parte del estudio sin que esto afecte a tus derechos como sujeto y como paciente. También puedes decidir no participar en el estudio a pesar de tus padres ya nos dieron su autorización para incluirte. Tú podrás buscar atención médica de tu posta aun si decides no participar.

También necesitamos tu asentimiento para guardar tus muestras sobrantes por 10 años. Estas se usarán para evaluar nuevas pruebas diagnósticas y posibles mecanismos de enfermedades causadas por microbios que afectan a los niños. No se guardarán las muestra usando tu nombre, sólo se usaran códigos. Aún puedes participar en el estudio de seguimiento si no nos das tu asentimiento para almacenar tus muestras. Ninguna de tus muestras se usará en estudios genéticos.

Yo voluntariamente acepto participar en este estudio. El estudio me ha sido explicado, me han dado tiempo para pensar y hacer preguntas sobre él. Las respuestas me han dado fueron claras y aceptables. Entiendo que puedo retirarme del estudio en cualquier momento.

Nombre del sujeto: _____ fecha _____ Investigador/cooperante _____ fecha _____
 Nombre del Testigo: _____ fecha _____



APROBADO

17/10/2013

10. 4 Anexo 4: Procedimientos operativos de Laboratorio

1. HECES

1.1. EXAMEN DIRECTO MACROSCÓPICO

Fundamento.

Este examen permite observar las características morfológicas de los parásitos adultos directamente, en forma de huevos, quistes, parásitos enteros o fraccionados. También permite evaluar las características de las heces (color, presencia de moco o sangre, y consistencia).

Muestra

Heces en formol al 10%

Materiales.

- Suero fisiológico
- Palitos de madera
- Gasa.

Procedimiento.

Recoger heces en el contenedor, se debe procurar que la muestra sea una muestra representativa. Luego, agregar suero fisiológico para homogeneizar la muestra. Es muy importante que la muestra no se contamine con otros desperdicios. En caso de presencia de parásitos adultos, se debe tamizar o colar la muestra para su identificación.

Observación.

Observar las características externas o macroscópicas de las heces, que son útiles para la ayuda diagnóstica (consistencia, color, presencia de moco o sangre), así como la presencia de parásitos adultos cilíndricos, anillados o aplanados (enteros o parte de ellos).

1.2.- EXAMEN DIRECTO EN LÁMINA DE LA SEDIMENTACION

Fundamento.

Buscar la presencia de formas parasitarias de tamaño microscópico (trofozoítos, quistes, larvas o huevos de helmintos).

Muestra

Heces en formol al 10% sedimentadas según técnica en 1.3

Materiales

- Láminas portaobjetos.
- Laminillas cubreobjetos.
- Microscopio óptico
- Palillo
- Marcadores indelebles
- Solución de lugol
- Papel absorbente

Procedimiento.

- Aspirar con una pipeta 500 μ L del sedimento en la copa teniendo cuidado de no dispersar el contenido en el fondo
- Colocar la muestra en una lámina y agregar una o dos gotas de Lugol, mezclar con el palillo, y colocar la lámina cubreobjetos.
- Tener cuidado de realizar un extendido uniforme para facilitar la observación, el excedente de Lugol debe ser retirado con el papel absorbente.

Observación

- Enfocar la lámina con el lente de 10 x.
- Hacer un recorrido de la lámina de derecha a izquierda y de arriba a abajo. A este aumento observar toda la lámina.
- Luego enfocar con el lente de 40X para observar elementos pequeños como quistes, ooquistes o huevos. Se deberá observar toda la lámina a este aumento usando el mismo recorrido mencionado anteriormente.

Resultado

En el formato FLP del sujeto marcaran los resultados correspondientes al examen directo. Se podrá anotar el estadio del parásito encontrado (quiste, larva).

1.3 MÉTODOS DE CONCENTRACIÓN POR SEDIMENTACION

Los parásitos en forma de quistes, ooquistes, larvas y huevos serán sometidos a concentración por diversos métodos, el que se utilizará para este estudio es el de sedimentación rápida de Lumbreras.

1.3.1 Métodos de concentración por sedimentación rápida (técnica de Lumbreras).

Fundamento.

Los huevos, larvas o quistes de mayor tamaño y peso sedimentan rápidamente cuando se suspenden en agua.

Muestra

- Heces en formol al 10%

Materiales

- Copa cónica de 150 a 200 mL.
- Placas Petri
- Palillos de madera
- Pipeta de transferencia
- Gasa
- Agua corriente filtrada
- Microscopio
- Lugol

Procedimiento

- Mezclar 3 a 6 g de heces con unos 10 a 20 mL de agua filtrada
- Poner una capa de gasa en la abertura de la copa y filtrar la muestra homogenizada a través de ella.

- Llenar la copa con agua filtrada hasta 1 cm por debajo del borde, esto es 15 a 20 veces el volumen de la muestra.
- Permitir que la muestra sedimente durante 45 minutos.
- Descartar las 2/3 partes del sobrenadante y agregar agua filtrada hasta el mismo límite de la copa.
- Repetir una vez más el procedimiento para completar 3 ciclos de dilución y sedimentación.
- Luego de descartar el sobrenadante por última vez, transferir aproximadamente 300 µL del sedimento a una lámina portaobjetos, colocar Lugol, y cubrir con un cubreobjetos.
- El resto de sedimento se transferirá a una placa Petri con ayuda de una pipeta de transferencia cuidando de incluir todo el sedimento al fondo de la copa.

Observación

- Observar el sedimento en lámina portaobjetos al microscopio aumentos de 10x y 40x. Pague especial atención a la identificación de quistes de protozoos, larvas y huevos de nematodos, trematodos y cestodos.
- Observar la presencia de huevos de *F. hepatica* y otros helmintos en el sedimento en placa Petri a 10X.

1.4 TÉCNICA CUANTITATIVA DE KATO KATZ O MÉTODO DE CONCENTRACIÓN POR TAMIZADO

Fundamento

El método requiere el uso de glicerina como aclarante y el verde de malaquita como colorante de contraste, lo que resalta la presencia de huevos de helmintos en la muestra. La cuantificación se da al enumerar los huevos observados en una cantidad específica de heces. Este método no es útil para protozoos pues sus estructuras son muy finas y no es posible observarlos con este método. Tampoco es el método de elección para la observación de larvas.

Equipos

- Microscopios.
- Incubadora a 37 °C.
- Refrigerador.

Materiales:

- Glicerina QP 100 mL
- Verde de malaquita al 3% (3 g)
- Agua destilada 100 mL
- Cuadrados de malla de mosquitero de 10 cm de lado.
- Cuadrados de papel celofán 22 x 44 mm
- Cuadrados de cartón de 30 mm de lado y 2 mm de grosor con una perforación en el centro de 6 mm de diámetro.
- Papel absorbente o papel periódico.
- Palillos de Madera.

Procedimiento.

- Depositar sobre el papel periódico 5 g de material fecal.
- Colocar la malla de mosquitero sobre la materia fecal y presionar para que salga el tamizado.
- Sobre una lámina portaobjetos colocar el cuadrado de cartón perforado y con la ayuda de un palillo de madera llenar el orificio con las heces tamizadas. Rasar las heces hasta exactamente el límite de cartón.
- Con sumo cuidado retirar el cartón, dejando la materia fecal sobre el portaobjetos. La cantidad de heces en la lámina será de 5 g
- Mezclar 100 mL de glicerina, 100 mL de agua destilada y 3 g de verde de malaquita.
- Con la ayuda de una pinza impregnar un cuadrado de papel celofán con la mezcla de glicerina y verde de malaquita. Dejar incubar por 24 horas.
- Colocar un cuadrado de papel celofán impregnado con glicerina y verde de malaquita sobre las heces. Presionar sobre estas con la ayuda de papel absorbente para lograr un extendido fino apto para la observación al microscopio. Se tendrá cuidado de no extender las heces más allá de la lámina, para no perder material.
- Incubar por 30 minutos a 37°C para la diafanización de la materia fecal. No exceder el tiempo de diafanización.

Observación.

Observar los huevos de helmintos al microscopio a 10x y 40x. Se cuantificará el total de huevos observado en la lámina.

Resultado

- El número total de huevos encontrados en la lámina se multiplica por el factor k. Para nuestra prueba $k = 20$ # de huevos en 50 g de heces $\times 20 =$ # de huevos en 1 g de heces
- Se reportará el número de huevos por gramo de heces (hpg).

CONTROL DE CALIDAD:

CALIBRACIÓN DE BALANZA SCOUT PRO (OHAOUS)

MATERIALES

Peso patrón de 200 g

Balanza

RESPONSABLE

Personal de laboratorio de microbiología

PROCEDIMIENTO

La calibración de la balanza del laboratorio de microbiología se evaluará 1 vez por semana usando la pesa patrón de 200 g disponible en el laboratorio.

Se presionará el botón de On/Off una sola para encender la balanza. Una vez que esta marque 0.0 se colocara la pesa patrón. La balanza deberá marcar 200.00 gramos. En el cuaderno de incidencias debe registrarse la fecha, hora, y nombre de quien realizó la medición.

Si la balanza no marcara exactamente 200.00 g, se retirará la pesa y se procederá a tarar la balanza presionando por 30 segundos el botón de On/Zero/Off. Cuando la pantalla marque "0.00", nuevamente se pesará el patrón. Si la inexactitud en la medición persistiera se calibrará la balanza siguiendo los pasos detallados a continuación:

- a) Apague la balanza. Presione el botón de On/Zero/Off hasta que aparezca la palabra "menú" en la pantalla.
- b) Suelte el botón On/Zero/Off y la pantalla deberá mostrar ".C.A.L."
- c) En este punto, presione y suelte el botón On/Zero/Off. La pantalla mostrará brevemente el mensaje "- C -" y luego mostrará el mensaje "200 g".
- d) Coloque el peso patrón de 200 g en el platillo y presione brevemente el botón On/Zero/Off. La pantalla mostrara nuevamente "- C -" y luego el mensaje "Done", con lo que la calibración se completa.

CONTROL DE CALIDAD DEL EXAMEN DE KATO KATZ

MATERIALES

Cuadro de cartón de espesor 2 mm y con orificio de 6 mm de diámetro.

Malla mosquitero

Palillo

Papel periódico

Balanza

RESPONSABLE

Trabajadores del laboratorio de microbiología

PROCEDIMIENTO

Los trabajadores harán control de calidad en conjunto comparando la técnica usada y la precisión de la cantidad de heces (50 mg) que se usa para el test de Kato Katz.

El control de calidad se llevará a cabo cada 15 días.

El primer paso será pesar con la balanza 3 láminas portaobjeto y apuntar en cada una de ellas la lectura.

Luego se usará la malla mosquitero y el pedazo de cartón para medir la cantidad de heces de manera usual en cada una de las láminas. Para cada lámina se utilizará un nuevo pedazo de cartón.

Las láminas con las heces se pesarán individualmente. El peso de la lámina se sustraerá del peso de la lámina con las heces, obteniéndose el peso de heces medido con por el cartón. El promedio aritmético de los 3 pesos de heces medidos debe ser $50 \text{ mg} \pm 2.5 \text{ mg}$.

De existir deficiencias en la técnica de medición detectadas por este procedimiento, el personal de laboratorio deberá recibir entrenamiento en la adecuada medición de las heces.

CONTROL DE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LOS EXAMENES

MATERIALES

Muestra de heces con huevos de parásitos conocidos y cuantificados

Materiales detallados para las pruebas de Kato Katz, sedimentación en lámina y en placa.

PERSONA RESPONSABLE

Supervisor de laboratorio

PROCEDIMIENTO

La sensibilidad y especificidad de cada trabajador de laboratorio será evaluada cada 2 meses.

Esto se llevará a cabo introduciendo en la rutina de trabajo muestras clínicas con un contenido conocido de huevos y larvas de parásitos que además se han cuantificado.

Cada trabajador de laboratorio deberá procesar 10 de estas muestras.

El trabajador de laboratorio deberá identificar correctamente el(los) parásitos de por lo menos 9 de 10 láminas. La cuantificación de huevos por técnica de Kato Katz no deberá diferir en más de 20% de la cuantificación estándar de la muestra.

Los trabajadores que fallen el control de calidad recibirán entrenamiento en cada técnica usada en el protocolo y en identificación de parásitos según módulos diseñados para este propósito.

2. MUESTRA DE SANGRE

Materiales:

- Algodón
- Guantes de procedimiento
- Alcohol puro 96° 100 mL

Procedimiento.

- Colocar el brazo del paciente en una posición cómoda apoyada sobre un almohadín.
- Elegir la vena de puntura
- Realizar asepsia de la zona
- Proceder a colocar el vacountainer y obtener de 2 a 10 mL de sangre

Observación.

Se realizarán pruebas automatizadas en todas las muestras que serán valoradas de acuerdo con los rangos preestablecidos.

- Supervisión y monitoreo de actividades

Trabajo en campo: Coordinadora de estudio

Laboratorio: Supervisor de laboratorio

2.1 Prueba de captación de IgG Fas2-ELISA

La prueba de Fas2-ELISA es una prueba de inmunodiagnóstico en humanos de la infección por *F. hepatica* en las fases aguda y crónica de la infección la prueba estima los valores de IgG circulantes contra el antígeno Fas2 producido por el parásito mediante ELISA (Enzyme linked inmunoabsorbent Assay). El método se basa en la detección de anticuerpos IgG circulantes contra Fas2 mediante la técnica de ELISA.

Equipos

- Máquina lectora de ELISA.

Materiales:

- Antígeno purificador fijado en pocillo
- Suero control negativo
- Suero control positivo
- Conjugado anti IgG humano concentrado
- Solución diluyente
- Solución lavado - concentrado
- Sustrato TMB
- Sustrato STOP

Procedimiento.

1. Colocar reactivos a temperatura ambiente.
2. Correr un blanco y un control con cada ensayo a realizarse.
3. Preparar dilución 1/1500 de los sueros de los pacientes, mezclar la dilución y adicionar 10 μ L de cada dilución en los pocillos.
4. Para los sueros controles positivo y negativo hacer una dilución de 1/10 en cada uno de los pocillos y añadir 90 μ L de solución diluyente.
5. Incubar en pozos a 37°C por 1 hora.
6. Usar la solución de lavado.
7. Diluir el conjugado con la solución diluyente
8. Añadir conjugado anti IgG humano concentrado
9. Incubar en pozos a 37°C por 1 hora

10. Repetir los pasos descritos en el punto 6

11. Adicionar sustrato TMB

12. Incubar reacción a temperatura ambiente

13. Adicionar solución STOP

14. Leer la absorbancia a 450 nm de absorbancia en la lectora de ELISA.

Observación.

- ≤ 0.2 Negativo
- > 0.2 Positivo