



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**TRABAJO DE FIN DE GRADO**

**PARÁSITOS RESPONSABLES  
DE LA DIARREA DEL  
VIAJERO**

Autor: Marta Mercedes Toval Sánchez

Tutor: Catalina Castaño Fernández

Convocatoria: Junio 2016

## RESUMEN

La diarrea del viajero (DV) es un síndrome clínico padecido durante o tras la realización de un viaje, generalmente relacionado con el consumo de agua o alimentos contaminados. Existen múltiples factores relacionados con la adquisición de la misma, siendo el más característico el destino del viaje. Generalmente es una enfermedad autolimitada pero puede causar gran impacto en el paciente, en especial en los inmunocomprometidos ya que puede derivar en un cuadro crónico. La etiología parasitaria no es la más común en la diarrea aguda, sin embargo destaca como la primera causa etiológica de la diarrea del viajero crónica. *Giardia duodenalis* es el protozoo que más comúnmente causa esta patología, pero existen otros como *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium parvum* o *Cyclospora cayetanensis* con diferente distribución geográfica. Actualmente se está mejorando el diagnóstico de la diarrea del viajero de causa parasitaria con la aplicación de nuevas técnicas en contraposición a la microscopía, prueba de referencia en estos casos. La profilaxis es un factor muy importante, ya que es una enfermedad fácilmente prevenible si se siguen una serie de consejos relacionados con la higiene.

## ABSTRACT

*Traveller's diarrhoea is a clinical syndrome suffered during or after travel, usually associated with the consumption of contaminated foods and drinks. There are multiple determinants of risk related with this illness but the most important of them is travel destination. It is generally an autolimited illness but it can cause a big impact in patients, especially in those who are immunocompromised since it can originate a chronic disease. Parasitic aetiology is not the most common one in acute diarrhoea; however, it is the primary cause in chronic traveller's diarrhoea. The most common parasitic cause of traveller's diarrhoea is Giardia duodenalis but there are another protozoan such as Entamoeba histolytica, Cryptosporidium parvum or Cyclospora cayetanensis. Nowadays the diagnosis of traveller's diarrhoea is improving with the implementation of new techniques in contrast to microscopy, used as gold standard in these cases. Prophylaxis is a very important factor because is an illness easy to prevent if hygienic advice is followed.*

## INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Cada año aumenta el número de personas que realizan viajes internacionales, lo que queda reflejado en el gran aumento que ha experimentado el turismo internacional en las últimas décadas. Según la Organización Mundial de Turismo (OMT) las llegadas de turistas internacionales alcanzaron un nuevo record en 2015 con 1.184 millones<sup>1</sup>, siguiendo así la tendencia de crecimiento experimentada desde el 2010, y se estima que para 2030 se rebasen los 1.800 millones de viajeros<sup>2</sup>. En la actualidad España es el tercer país receptor del mundo, con más de 68 millones de visitantes<sup>2</sup> y alrededor de 15 millones de españoles realizan viajes internacionales cada año. Uno de cada cuatro países visitados se podría considerar de alto riesgo en cuanto a infecciones asociadas con el consumo de agua y comida<sup>3, 4</sup>. Los viajes de larga distancia, especialmente a países con economías emergentes (África y Asia) han aumentado desproporcionadamente<sup>5, 6</sup> y además se ha incrementado el número de viajeros considerados de mayor riesgo sanitario como son los niños, ancianos, enfermos, cooperantes, aventureros, etc<sup>4</sup>.

Por otra parte, cabe destacar la inmigración como una fuente de viajeros muy importante en nuestro país. Desde 1995 España recibe gran cantidad de inmigrantes, fenómeno que no ha parado de aumentar, convirtiéndose en una de las puertas de entrada de los inmigrantes a Europa<sup>7</sup>. Un gran porcentaje de estos proceden de zonas con una higiene y sanidad deficientes, lo que aumenta el riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas. Es importante destacar un grupo de viajeros conocidos como VFRs (*Visiting friends and relatives*). Este término hace referencia a los inmigrantes (y a sus hijos) que una vez establecidos en los países de acogida viajan a sus países de origen, generalmente para visitar a familiares o amigos. Estos viajes no siguen los mismos patrones que los de turistas nacionales, al ser de larga duración y a zonas rurales, lo que conlleva un mayor riesgo de contraer infecciones ya que viven en las mismas condiciones que la población local. Además un agravante es la baja percepción del riesgo sanitario que presenta este colectivo ya que tienden a adoptar menos medidas de protección frente a la exposición<sup>7, 8, 9</sup>.

Otros grupos de riesgo son los refugiados, trabajadores estacionales, emigrantes españoles que regresan de países tropicales, miembros de ONGs o militares en misiones internacionales<sup>4</sup>.

En los desplazamientos internacionales, los viajeros se encuentran expuestos a enfermedades infecciosas diferentes a las de su entorno, con lo cual es fundamental adoptar medidas preventivas para evitar la denominada patología del viajero<sup>4</sup>.

De entre todas las patologías que se pueden adquirir en viajes a países menos desarrollados, la diarrea del viajero es la más frecuente. Se estima que hay alrededor de 50.000 casos diarios en el mundo<sup>10</sup> y es el principal motivo de consulta en viajeros que regresan de zonas no desarrolladas<sup>10, 11, 13</sup>. Se han utilizado términos coloquiales para describir esta enfermedad según el lugar donde se hubiera adquirido como: “Venganza de Moctezuma” (México), “Maldición del Faraón” (Egipto) o “Estómago de Delhi” (India)<sup>11</sup>.

La diarrea del viajero (DV) es un síndrome clínico asociado al consumo de agua o alimentos contaminados que ocurre durante o poco después de realizar un viaje.

Se define como un aumento en la frecuencia de deposiciones (tres o más deposiciones líquidas al día) durante tres o más días y que se puede acompañar de otros síntomas como fiebre, dolor abdominal, náuseas y vómitos, tenesmo y sangre o moco en las heces<sup>11, 12</sup>. Es especialmente frecuente en personas que visitan zonas tropicales o subtropicales en las que las condiciones higiénico-sanitarias son más precarias<sup>8, 13</sup>.

Es una enfermedad autolimitada y es excepcional que produzca mortalidad<sup>7, 14, 15</sup>. Sin embargo, aunque se trate de un cuadro benigno, puede tener gran impacto en el paciente, ya que se calcula que entre el 30 y el 45% de los pacientes que la padecen quedan incapacitados para poder seguir con su plan de viaje durante al menos 12-24 horas<sup>10, 17</sup>. En la mayoría de los casos se resuelve espontáneamente en unos pocos días, aunque la diarrea persistente o crónica se desarrolla en torno al 1-3% de los viajeros a regiones de alto riesgo<sup>14, 16</sup>.

La DV tiene una prevalencia aproximada del 20-60% dependiendo de las características del viaje<sup>11, 16, 18</sup>. Existen diferentes factores que condicionan la posibilidad de padecer DV, de los cuales el más importante es el destino del viaje (que se relaciona directamente con las condiciones higiénico-sanitarias).

El mundo se puede dividir en 3 zonas según el grado de riesgo<sup>12, 19, 20</sup>:

- Zonas de bajo riesgo (< 5%): Estados Unidos, Canadá, Australia, Nueva Zelanda, Japón y los países del Norte y Oeste de Europa.
- Zonas de riesgo intermedio (15-20%): Este de Europa, Rusia, Sudáfrica y algunas islas del Caribe.
- Zonas de alto riesgo (20-60%) Las zonas de alto riesgo se encuentran en la mayor parte de Asia, Oriente Medio, África, México, América Central y Sudamérica.



**Figura 1.** Variación del riesgo de adquisición de DV entre los visitantes internacionales procedentes de regiones de bajo riesgo. En rojo aparecen las zonas con alto riesgo, en amarillo las de riesgo intermedio y en verde las de riesgo bajo<sup>20</sup>.

Otros factores son:

- Zona de procedencia<sup>10</sup>: los viajeros procedentes de países desarrollados tienen más riesgo que los que proceden de zonas menos desarrolladas a la hora de viajar a países poco desarrollados. Esto es debido a que no están expuestos habitualmente a los enteropatógenos de esas zonas y no cuentan con inmunidad previa.
- Tiempo de permanencia<sup>10, 12</sup>: los viajeros que realicen viajes de corta duración tienen más riesgo ya que con el tiempo se desarrolla cierta inmunidad.
- Tipo de viaje: los viajeros que visitan zonas rurales y se alojan con la población local son los que más riesgo tienen en comparación con los que realizan viajes organizados, cruceros o se alojan en hoteles de lujo.

- Factores personales predisponentes como alteraciones en la acidez gástrica (incluido el tratamiento con inhibidores de la bomba de protones o antagonistas H<sub>2</sub>)<sup>19, 20, 21, 22</sup>, estados de inmunosupresión, comorbilidad (síndrome del intestino irritable, diabetes...). También existen factores genéticos predisponentes como destaca un estudio llevado a cabo en estudiantes estadounidenses en México. Un polimorfismo en IL-8 aumenta la probabilidad de contraer DV por *Escherichia coli* enteroadherente y es probable que afecte al curso de la infección por otros patógenos como *E.coli* enterotoxigénica, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, *Shigella* y especies de *Cryptosporidium*, ya que han mostrado niveles incrementados de IL-8 fecal<sup>19</sup>.
- Edad: es más común en niños y jóvenes hasta 30 años, mientras que se registra una menor incidencia a partir de los 55 años. Puede ser debido a una falta de inmunidad y un incremento en la contaminación fecal-oral ya que prestan menos atención a lo que comen y beben<sup>11, 19</sup>.
- Variaciones estacionales, ya que los agentes etiológicos cambian su prevalencia en función de la estación de año, por ejemplo *Shigella* y rotavirus son más prevalentes en la estación seca mientras que *E.coli* enterotoxigénica y *Giardia duodenalis* presentan mayor frecuencia en la estación lluviosa<sup>6, 10</sup>.

La DV es causada por un amplio rango de patógenos incluidas bacterias, virus y parásitos. Las bacterias son responsables de la mayoría de los casos (60-80%)<sup>10, 17</sup> siendo *Escherichia coli* el microorganismo causante de DV más frecuente en el mundo<sup>12</sup>. Otros agentes bacterianos son *Shigella*, *Salmonella* y *Campylobacter jejuni*<sup>10</sup>. Los virus, fundamentalmente rotavirus, causan aproximadamente un 5-10% de los casos y se producen más frecuentemente en países desarrollados<sup>10, 12, 23</sup>. Las infecciones parasitarias son responsables de un 10% de los casos y con mucha frecuencia se asocian a cuadros clínicos de larga duración<sup>10, 12, 17</sup>. En un 20-50% de los casos no es posible identificar un agente etiológico, sin embargo se considera que la mayoría de estos casos son de etiología bacteriana debido a que la terapia antibacteriana ha mostrado en múltiples estudios que acorta la duración de la enfermedad<sup>12, 24, 25</sup>.

## OBJETIVO

El objetivo de este Trabajo de Fin de Grado es realizar una revisión bibliográfica sobre la etiología parasitaria de la diarrea del viajero destacando los datos epidemiológicos más recientes sobre el tema.

## METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión bibliográfica de los trabajos publicados en los últimos 10 años. Para ello, se utilizaron bases de datos acreditadas como *PubMed*, *Science Direct* o Google Académico acotando los resultados entre los años 2006 y 2016. Se buscaron publicaciones sobre la incidencia, etiología y tratamiento de la DV parasitaria además de los riesgos de adquirirla. Los términos de búsqueda incluyeron (en español y en inglés): *diarrea del viajero*, *enfermedades viajero*, *diarrea parasitaria*, *parásitos diarrea viajero*, *causas diarrea viajero* y los diferentes parásitos tratados en este trabajo: *Giardia*, *Entamoeba*, *Cryptosporidium* y *Cyclospora*.

Los datos epidemiológicos se han obtenido fundamentalmente de los informes publicados por el Ministerio de Sanidad sobre los viajeros atendidos en la Unidad de Medicina Tropical del Hospital Ramón y Cajal de Madrid. Esta unidad pertenece a diferentes redes de vigilancia epidemiológica como son: GeoSentinel (CDC), EuroTravNet (EuroCDC), TropNetEurop y +REDIVI.

Además, cabe destacar la red GeoSentinel que posee 53 clínicas en 24 países y aloja la base de datos más amplia sobre enfermedades declaradas en viajeros e inmigrantes con más de 170.000 pacientes desde que fue fundada en 1995 por el CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) y la Sociedad Internacional de Medicina del Viajero (ISTM por sus siglas en inglés).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1. Epidemiología

Según un informe publicado en 2008 por el Ministerio de Sanidad relativo a las enfermedades infecciosas importadas por viajeros internacionales a los trópicos, el síndrome diarreico (donde se encuentra englobada la DV) es el más común en los viajeros atendidos en la Unidad de Medicina Tropical del Hospital Ramón y Cajal con un 28%<sup>12</sup>. En la red epidemiológica +REVIDI se encontró un resultado similar con un 33,2% con datos entre Enero 2009 y Noviembre 2014<sup>26</sup>.

La diarrea aguda se presentó en un 16% de los viajeros que acudieron a consulta tras el viaje. El principal diagnóstico fue infección bacteriana intestinal (57,9%) pero en un porcentaje importante (14,4%) fue de causa parasitaria. La diarrea crónica fue la causa de que un 12,1 % de los viajeros acudiesen a consulta, siendo el diagnóstico más frecuente los parásitos intestinales (32%). Al igual que en la diarrea aguda el parásito que con más frecuencia causaba diarrea fue *Giardia duodenalis* (15%). También se encontraron casos de *Ascaris lumbricoides*, uncinarias (*Ancylostoma sp/Necator sp*) y otros helmintos intestinales pero fueron mucho menos frecuentes<sup>12</sup>. *Giardia duodenalis* es el principal agente protozario encontrado en la DV. Las amebas del género *Entamoeba*, destacando *E.histolytica*, *Cryptosporidium parvum* y *Cyclospora cayetanensis* también son protozoos que pueden encontrarse en DV pero son menos comunes. *Cyclospora* tiene un marcado riesgo estacional y geográfico, siendo las áreas de riesgo más conocidas Nepal, Perú, Haití y Guatemala, donde es endémica<sup>11, 23</sup>.

**Tabla 1.** Parásitos intestinales productores de diarrea aguda y crónica (centrada en los parásitos destacados en este trabajo)<sup>12</sup>.

	Diarrea aguda (%)	Diarrea crónica (%)
<i>Giardia duodenalis</i>	6	15
<i>Entamoeba sp.</i>	3,3	7,2
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	0,4	0,3

Dentro de los viajeros diagnosticados con parasitosis intestinales, Australasia – Oceanía y Asia Sur – Central son las zonas donde un mayor porcentaje de los viajeros adquirieron parásitos intestinales con un 28,6 y 22,4% respectivamente<sup>12</sup>.

**Tabla 2.** Número y porcentaje de viajeros con parasitosis intestinales según zona visitada<sup>12</sup>.

	Total	Nº viajeros	Porcentaje
África Subsahariana	1.387	144	10,4
África Norte	95	11	11,6
América Central – Caribe	575	86	15
América del Sur	464	68	14,7
Asia Sur – Central	263	59	22,4
Asia Sur – Este	143	7	4,9
Asia Oeste	28	4	14,3
Asia Este	15	1	6,7
Australasia – Oceanía	14	4	28,6

En cuanto a la etiología, *Giardia duodenalis* fue el parásito más frecuentemente diagnosticado, en un 4,2% del total de los pacientes y un 28,2% sobre el total de parasitosis intestinales<sup>12</sup>.

**Tabla 3.** Etiología de las infecciones intestinales parasitarias<sup>12</sup>.

	Porcentaje (total de pacientes)	Porcentaje (parasitosis intestinales)
<i>Giardia duodenalis</i>	4,2	28,2
<i>Entamoeba histolytica</i>	2,2	14,9
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	0,1	0,8
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0	0,2

Según los datos obtenidos de la red GeoSentinel en todo el mundo, la diarrea parasitaria se presenta en un 35,4% de los pacientes, siendo la giardiosis y la amebosis las causas más destacadas con un 17,3 y 12% de los diagnósticos respectivamente.

Geográficamente, la región donde mayor porcentaje de diarrea parasitaria se presenta es en el Sur y Centro de Asia, donde también se observa un mayor porcentaje de *Giardia* (28,6%) y un elevado valor de amebosis (10,3%). La zona con más porcentaje de infección por *E.histolytica* es América Central (15,5%) seguida de Sudamérica (14,2%) y el África subsahariana (13,8%)<sup>27</sup>.

**Tabla 4.** Etiología de la diarrea parasitaria según la región<sup>27</sup>.

	Diarrea parasitaria (%)	Giardiosis (%)	Amebosis (%)
Todas las regiones	35,4	17,3	12
Caribe	28,3	13,2	10,5
América Central	40,3	13,6	15,5
Sudamérica	36,8	15,8	14,2
África Subsahariana	35,3	17,7	13,8
Asia Sur y Central	45,3	28,6	10,3
Sudeste asiático	26,2	11,8	7,4
Otras o múltiples regiones	32,3	13,2	13,5

Otros estudios confirman que la zona con más DV por parásitos es el sur de Asia incluido el subcontinente indio, como por ejemplo un estudio basado en los datos de la red GeoSentinel en 2013 que destaca *Giardia* como primera causa parasitaria de diarrea<sup>6</sup>. Además otra red de vigilancia epidemiológica como es EuroTavNet sitúa a *Giardia* como la primera causa de diarrea tanto parasitaria como no, en esta misma zona geográfica con un 11% de prevalencia en 2008 y 2009<sup>28</sup>.

Estos datos son similares a los de otros estudios, destacando uno llevado a cabo sobre viajeros españoles en la Unidad de Medicina Tropical del Hospital Ramón y Cajal entre 1989 y 2006 que cifra la prevalencia de *Giardia* en un 9,5% mientras que de diarrea bacteriana se obtuvo un dato de 8,5%. También cabe señalar que en este estudio los parásitos intestinales son la primera causa de síndrome diarreico con un 22% de prevalencia<sup>29</sup>.

#### Otros grupos de viajeros: VFRs e inmigrantes

En la comparación realizada en el informe +REDIVI de Enero del 2015 se observa que los viajeros son el grupo con mayor porcentaje de síndrome gastrointestinal, al igual que de giardiosis y amebosis. También cabe destacar que el grupo denominado como VFR – viajeros (los hijos de inmigrantes que han nacido en el país de acogida), tiene tasas muy similares a las de viajeros nacionales. Esto se puede explicar porque al haber nacido en el país de acogida no han estado en contacto con los patógenos propios del país de origen y no poseen una inmunidad previa. Además este hecho está refutado por los datos de VFR – inmigrantes (inmigrantes que vuelven a su país de origen a visitar a sus familiares o amigos) e inmigrantes, en los que se observa una disminución notable del porcentaje de síndrome gastrointestinal, además de la infección por *Giardia* y *Entamoeba*<sup>26</sup>.

**Tabla 5.** Comparativa entre los diferentes grupos de viajeros según la prevalencia de síndrome gastrointestinal, giardiosis y amebosis<sup>26</sup>.

	Síndrome gastrointestinal	Giardiosis	Amebosis
<b>Viajeros</b>	33,2%	7%	3,63%
<b>VFR – Viajeros</b>	27,7%	6,1%	2,6%
<b>VFR – Inmigrantes</b>	11%	2,3%	1,9%
<b>Inmigrantes</b>	5%	1,9%	0,7%

## 2. Principales parásitos responsables de la diarrea del viajero.

### 2.1. *Giardia duodenalis* (intestinalis o lamblia)

Es un protozoo flagelado que parasita el intestino delgado<sup>30</sup>.

#### a) Transmisión

Es transmitido por la ingestión de quistes presentes en comida o agua contaminada, incluida el agua tragada al nadar. Este protozoo es idealmente apto para la transmisión debido a su baja dosis infectiva, prolongada transmisibilidad y moderada resistencia al cloro<sup>11</sup>. También se reconoce la transmisión persona a persona, incluido el contacto sexual<sup>11</sup>.

#### b) Distribución geográfica

Tiene amplia distribución mundial, siendo más prevalente en zonas de saneamiento deficiente<sup>12, 23</sup>.

#### c) Mecanismo de producción de diarrea

La diarrea causada por *Giardia* es mediada por un aumento de la velocidad de tránsito del intestino delgado, además de un aumento en la secreción de cloro. Los mecanismos no están del todo claros pero se sabe que hay factores del hospedador y del parásito que contribuyen a la patogénesis de *Giardia*. Un aumento en la tasa de apoptosis de los enterocitos y la disrupción de las uniones estrechas epiteliales derivan en una disfunción de la barrera intestinal, lo que resulta en una activación de los linfocitos T CD8 citotóxicos. Estos linfocitos pueden inducir daños en el microvilli y un mal funcionamiento en los enterocitos que podría resultar en malabsorción<sup>17</sup>.

#### d) Cuadro clínico

Produce un cuadro clínico que varía de totalmente asintomático hasta diarrea severa y malabsorción<sup>12</sup>. Presenta molestias abdominales inespecíficas, diarrea crónica (espumosa, amarillenta y maloliente), flatulencia, distensión abdominal, etc. La fase aguda dura de 2 a 4 semanas, siendo más grave y prolongada en pacientes con VIH<sup>23</sup>. Son muy frecuentes los cuadros de diarrea crónica que alternan periodos de mejoría con fases de empeoramiento<sup>12</sup>. Pacientes con deficiencia en IgA tienen más probabilidad de desarrollar una infección crónica<sup>31</sup>. La artritis reactiva, el intestino irritable y otros síntomas crónicos pueden ocurrir tras la infección por *Giardia*<sup>11</sup>. Se han citado informes de casos que relacionan la artritis reactiva con *Giardia* o *Cyclospora* pero no se han publicado estudios controlados implicando a estos patógenos<sup>32</sup>.

## **2.2. *Entamoeba histolytica***

Existen diferentes especies que pertenecen al género *Entamoeba* pero no todas son patógenas. La más asociada a patología en el ser humano es *E.histolytica*<sup>12</sup>.

### a) Transmisión

Se transmite vía fecal-oral, por contacto persona-persona o al ingerir comida o bebida contaminada fecalmente.

### b) Distribución geográfica

La amebosis presenta una distribución universal pero es más frecuente en áreas donde las condiciones higiénico-sanitarias son pobres. La mayoría de las infecciones por *E.histolytica* se producen en África, Asia y América Central y del Sur<sup>12, 23</sup>. Una muestra de viajeros entre 2007 – 2011 mostró que la mayoría de la gente infectada por *E.histolytica* había viajado por turismo a la India, Indonesia, México o Tailandia<sup>11</sup>. Los viajeros a largo plazo tienen significativamente más riesgo que los de corto plazo (menos de 1 mes) de adquirir *E.histolytica*. Inmigrantes y refugiados procedentes de estas áreas también están en riesgo<sup>11</sup>.

### c) Mecanismo de acción

Los trofozoitos producen lesiones superficiales en la mucosa del intestino a modo de erosiones y úlceras. Se produce una destrucción de los vasos sanguíneos provocando hemorragias y finalmente una distensión y destrucción de la pared intestinal<sup>23</sup>. Se ha sugerido que *E.histolytica* libera varias moléculas citotóxicas como proteinasas que degradan la matriz extracelular y proteínas formadoras de poros (ameboporos) que crean canales iónicos en la membrana que permiten un rápido flujo de calcio y otros iones lo que resulta en la muerte de la célula<sup>17, 19</sup>. La combinación de los efectos resulta en inflamación intestinal, destrucción de las células de la mucosa e invasión del epitelio intestinal<sup>17</sup>.

### d) Cuadro clínico

Las manifestaciones clínicas son muy variables desde una infección asintomática (90% de los casos)<sup>23</sup> a desarrollar una diarrea grave con carácter invasivo<sup>12</sup>. La amebosis aguda puede presentarse como diarrea o disentería con deposiciones frecuentes y en ocasiones sanguinolentas. También podemos encontrar amebosis crónica que presenta síntomas gastrointestinales, además de fatiga y pérdida de peso<sup>4</sup>.

Otras complicaciones incluyen amebomas, perforación intestinal, colitis crónica y ulceraciones de la piel<sup>23</sup>. Ocasionalmente el parásito se puede extender a otros órganos, fundamentalmente el hígado, dando lugar a la amebosis extraintestinal<sup>11</sup>. Las personas con más riesgo de padecer un trastorno severo son las embarazadas, los inmunocomprometidos o que estén tomando corticoesteroides<sup>11, 23</sup>. Además se han citado asociaciones con diabetes y el consumo de alcohol<sup>11</sup>.

### **2.3. *Cryptosporidium parvum***

#### **a) Transmisión**

Es un protozoo intracelular que se transmite por comida o bebida contaminada y debido a su baja dosis infectiva, supervivencia prolongada en la mayoría de los ambientes y su extrema tolerancia al cloro es particularmente apto para transmitirse. Además también se puede propagar de persona a persona<sup>11</sup>.

#### **b) Distribución geográfica**

Es endémico en todo el mundo y la realización de viajes internacionales es un factor de riesgo para adquirir criptosporidiosis, aunque pocos estudios han valorado la prevalencia de *Cryptosporidium* entre las personas con DV. Los datos disponibles la han asociado a viajar a Asia (particularmente a la India) y América Latina<sup>11</sup>.

#### **c) Mecanismo de producción de diarrea**

Este coccidio se encuentra sujeto al borde del microvilli del intestino delgado en un nicho intracelular pero extracitoplasmático, donde causa daño que resulta en la muerte del enterocito. En estas células, la absorción está disminuida y la secreción de cloro aumentada, lo que deriva en un aumento de la secreción intestinal en general, por lo tanto produce una diarrea de tipo osmótico<sup>17</sup>.

#### **d) Cuadro clínico**

Las manifestaciones clínicas son muy variables, en pacientes inmunocompetentes produce diarrea acuosa que se suele resolver en 2-3 semanas<sup>11</sup>. Sin embargo, en las personas inmunocomprometidas presenta diarrea crónica con posible malabsorción y diarrea grave (coleriforme) principalmente en pacientes con VIH<sup>23</sup>.

## **2.4. *Cyclospora cayetanensis***

### a) Transmisión

Coccidio que se adquiere tras la ingesta de ooquistes de manera similar a los parásitos anteriores<sup>11</sup>.

### b) Distribución geográfica

Presenta una distribución universal pero es más común en zonas tropicales y subtropicales donde los brotes son frecuentemente estacionales (verano y temporada de lluvias en Nepal) en los que incluso los viajeros a corto plazo se pueden infectar<sup>11</sup>. La mayoría de casos de ciclosporosis en Europa y Australia se han relacionado con viajes internacionales a áreas endémicas<sup>33</sup>.

### c) Mecanismo de producción de diarrea

En principio el mecanismo de producción de diarrea de *Cyclospora* sigue el mismo patrón que *Cryptosporidium*<sup>17</sup>.

### d) Cuadro clínico

El signo más frecuente es la diarrea acuosa que puede ser profusa y alternarse con estreñimiento. También pueden presentarse otros síntomas como vómitos, dolor abdominal o pérdida de peso<sup>12</sup>. Característicamente presenta mejoría espontánea pero si no se trata puede haber recaídas dando lugar a cuadros de diarrea crónica<sup>12, 23</sup>. También puede prolongarse la duración de la enfermedad en los pacientes inmunodeprimidos<sup>23</sup>.

## **3. Diagnóstico**

Un aspecto muy importante en la DV es realizar un diagnóstico correcto, para que en el caso de que sea necesario comenzar con un tratamiento farmacológico, éste sea el adecuado. El amplio rango de patógenos que causan la DV hace difícil predecir una etiología específica y seleccionar el método de diagnóstico apropiado. El diagnóstico se obtiene normalmente mediante la combinación de varias pruebas<sup>13</sup>. En un paciente que ha estado en un país tropical o subtropical y que acude a consulta por un síndrome diarreico es fundamental la realización de una anamnesis adecuada para orientar hacia la posible causa y poder solicitar las pruebas específicas de detección de parásitos. En concreto hay que conocer los lugares en los que ha estado y el tiempo de estancia, si ha llevado a cabo medidas de profilaxis y el tiempo de aparición de los síntomas<sup>10</sup>. Los datos clínicos y epidemiológicos pueden resultar de gran ayuda al laboratorio para interpretar los resultados de los ensayos.

El periodo de incubación de los patógenos puede ser una pista para la etiología de la DV. Los patógenos bacterianos y virales suelen tener un periodo de incubación más corto (6 – 72 horas) que los protozoarios, ya que estos últimos generalmente tienen un periodo de incubación de 1 – 2 semanas y raramente se presentan en los primeros días de viaje. Una excepción puede ser *Cyclospora cayetanensis* que se presenta rápidamente en las zonas de alto riesgo. Además, la duración de la diarrea puede orientar sobre el posible patógeno causante de la misma. La diarrea bacteriana no tratada dura entre 3 y 7 días; la viral suele durar menos tiempo, 2 ó 3 días; mientras que la protozoaria puede persistir semanas o meses sin tratamiento<sup>11</sup>.

Aunque la mayoría de los casos se resuelven sin tratamiento en varios días, en aproximadamente un 10% duran más de una semana y en un 2% persisten más de un mes<sup>17, 18</sup>. La mayoría de los casos de diarrea persistente se deben a estados de inmunosupresión, infecciones secuenciales con patógenos productores de diarrea o infecciones por parásitos protozoarios. DV prolongadas (más de 10 días), que comienzan después del regreso y las asociadas a pérdida de peso son probablemente debidas a protozoos como *Giardia*, ya que este es el patógeno persistente más comúnmente encontrado<sup>11, 18</sup>.

Se ha observado en algunos estudios que protozoos como *Giardia* o *Entamoeba histolytica* pueden ser responsables de hasta el 30% de los casos<sup>15, 17</sup> de diarrea persistente y cada vez se reconocen más otros protozoos relacionados con la diarrea crónica como *Cryptosporidium* y *Cyclospora*<sup>15</sup>, que también pueden producirla en individuos inmunocompetentes<sup>16</sup>.

En los pacientes con diarrea prolongada están indicados los cultivos de heces y exámenes parasitológicos, incluidos las pruebas adecuadas para evaluar coccidios, ya que por ejemplo *Cyclospora* es un agente que puede pasar desapercibido de no solicitarse pruebas especiales para su detección, siendo causa de diarrea persistente no solo en turistas sino en adultos que viven zonas endémicas<sup>24</sup>.

Cabe resaltar que en los pacientes infectados por VIH, protozoos como *Cryptosporidium* o *Cyclospora*, que causan diarrea limitada en los pacientes inmunocompetentes, pueden provocar enfermedades crónicas y devastadoras<sup>4</sup>.

Es importante destacar que para el diagnóstico de las parasitosis intestinales hay que tener un alto índice de sospecha dada la clínica inespecífica que presentan. Existe poca correlación entre la presencia de síntomas y el diagnóstico, ya que con frecuencia cursan de manera asintomática y cuando hay síntomas estos son muy variados: dispepsia, dolor abdominal difuso, diarrea, estreñimiento, etc. Sin embargo se pueden resaltar algunas manifestaciones clínicas específicas de los protozoos incluidos en este trabajo. *Giardia* suele producir diarrea crónica con flatulencia, esteatorrea y síndrome de malabsorción; *Cryptosporidium* y *Cyclospora* presentan generalmente diarrea prolongada. Por su parte *Entamoeba* puede producir diarrea, colitis amebiana, amebomas y absceso hepático, incluso meses o años después de su adquisición<sup>7</sup>.

Tradicionalmente el diagnóstico de las infecciones por protozoos intestinales se ha basado en la detección microscópica de quistes, trofozoitos u ooquistes en muestras fecales. La microscopía es la prueba diagnóstica de referencia (*gold standard*) ya que es sensible, barata y fácil de realizar<sup>34</sup>. Sin embargo, es un método laborioso que consume mucho tiempo y requiere de un microscopista experto<sup>35</sup>. *Giardia* y *Entamoeba* pueden ser detectadas mediante la identificación de quistes o trofozoitos en muestras frescas de heces y con tinción tricrómica, Giemsa y negro de clorazol<sup>17</sup>. *Cryptosporidium* y *Cyclospora* por su parte se visualizan mediante tinciones ácido alcohol resistente como Ziehl Neelsen modificado (caliente) o Kinyoun (frío)<sup>36</sup>. El examen de tres muestras fecales obtenidas en días diferentes aumenta la sensibilidad de la identificación hasta en un 85% pero tiene la desventaja de retrasar el diagnóstico final<sup>35</sup>, lo cual es muy importante ya que el reto es identificar el agente causante lo más rápido y con la mayor exactitud posible para que el tratamiento pueda comenzar. Es necesario valorar la gravedad del cuadro diarreico para comenzar un tratamiento empírico mientras se espera el resultado del laboratorio.

La detección específica de *Entamoeba histolytica* no se puede lograr usando únicamente la microscopía, ya que es morfológicamente indistinguible de la no patogénica *Entamoeba dispar*. Diferenciar las dos especies es esencial ya que el tratamiento de *E.dispar* es innecesario (raramente se ha asociado a enfermedad), mientras que es importante tratar *E.histolytica* incluso cuando es asintomática debido a su potencial carácter invasivo<sup>37</sup>.

Por lo tanto, se necesitan métodos adicionales como la detección de antígenos, caracterización de isoenzimas o PCR (reacción en cadena de la polimerasa por sus siglas en inglés)<sup>12, 35, 37</sup>. Aunque los métodos basados en el ADN han mostrado excelente sensibilidad y especificidad, la introducción de estos en la práctica diaria de laboratorio es limitada debido a que son métodos caros y que requieren de técnicos cualificados. Por lo tanto, los EIAs comerciales disponibles representan el método más práctico para la identificación de *E.histolytica*<sup>35</sup>. Adicionalmente se pueden realizar pruebas serológicas para ayudar a diagnosticar la amebosis extraintestinal<sup>11</sup>.

Actualmente, el aumento en el número de viajeros a países exóticos requiere nuevas estrategias diagnósticas para el procesamiento eficiente de las muestras. Los ensayos de detección de antígenos se han desarrollado en un intento de establecer métodos sensibles y rentables para diagnosticar infecciones intestinales parasitarias. Pueden proporcionar una ventaja ya que aportan la sensibilidad requerida para confirmar infecciones en pacientes con baja parasitemia<sup>35</sup>. Los inmunoensayos enzimáticos (EIA) como ELISA y los ensayos con anticuerpos fluorescentes como la inmunofluorescencia directa (IFD) se han aceptado como métodos alternativos de detección de *Giardia* y *Cryptosporidium* en heces<sup>38</sup>. Existen kits comerciales para el diagnóstico de laboratorio de protozoos intestinales<sup>17, 21</sup>.

Con la introducción de la PCR en tiempo real, combinar diferentes dianas en un ensayo múltiple ofrece la posibilidad de usar las técnicas basadas en el ADN como una estrategia de alto rendimiento<sup>38</sup>. Por ejemplo con la técnica de PCR múltiple xTAG<sup>®</sup> *Gastrointestinal Pathogen Panel* (GPP) se pueden detectar de manera rápida y simultánea 15 de los agentes más comunes causantes de gastroenteritis. Este ensayo se basa en la amplificación de diferentes dianas bacterianas, virales y parasitarias seguida de una detección mediante hibridación, lo que permite mejorar el diagnóstico de la DV al detectar patógenos no detectados mediante los métodos tradicionales<sup>13</sup>.

#### **4. Tratamiento**

La causa parasitaria más común de DV es *Giardia duodenalis* y sus opciones de tratamiento incluyen metronidazol, tinidazol y nitazoxanida, pudiendo usar paromomicina o albendazol como alternativa<sup>17</sup>. En un estudio llevado a cabo en viajeros españoles se observó que en un 20% de los casos el tratamiento con nitroimidazoles (fármacos de primera línea) no es efectivo y que el tratamiento alternativo con paromomicina o albendazol tampoco acababa con la infección<sup>39</sup>. Por lo tanto, se necesitan mayores estudios respecto al tratamiento de la giardiosis refractaria.

Aunque la criptosporidiosis suele ser una enfermedad autolimitada en personas inmunocompetentes, nitazoxanida puede ser considerada como una opción de tratamiento, aunque no ha probado ser efectiva en pacientes VIH<sup>11, 12</sup> que responden mejor a paromomicina<sup>23</sup>. *Cyclospora* por su parte se trata con trimetoprim-sulfametoxazol (cotrimoxazol)<sup>36</sup>.

El tratamiento de la amebosis por *E.histolytica* se lleva a cabo con metronidazol o tinidazol, seguido de un tratamiento con un agente intraluminal como yodoquinol o paromomicina. Los pacientes asintomáticos infectados por *E.histolytica* también deben recibir tratamiento con un agente intraluminal ya que pueden infectar a otros y un 4 – 10% pueden desarrollar enfermedad en un año si no son tratados<sup>11</sup>. Además han de realizarse análisis de heces 1, 3 y 6 meses después del tratamiento para asegurarse de que el enfermo está curado<sup>23</sup>.

#### **5. Prevención**

Para minimizar el riesgo de adquisición de la DV lo fundamental es tomar precauciones respecto a la bebida y la comida como hervir el agua y las verduras, pelar las frutas y cocinar bien los alimentos<sup>11, 12</sup>. El lugar donde se consumen los alimentos influye de gran manera en el posible riesgo de adquisición de parásitos intestinales, siendo máximo para los obtenidos en puestos callejeros o vendedores ambulantes y mínimo para la comida elaborada en casas particulares. Además en las zonas donde el agua del grifo no es adecuada, los viajeros deben ser advertidos de que las bebidas seguras para el consumo son las embotelladas y selladas. El mejor sistema de desinfección del agua es hervirla durante unos minutos o usar filtros con poros  $<1\mu\text{m}$  y que cumplan los requisitos establecidos por la NSF (*National Sanitary Foundation*)<sup>10</sup>.

También es muy importante tener una higiene de manos adecuada, especialmente tras defecar y previa a la manipulación de alimentos. No obstante, hay que tener en cuenta que los geles antisépticos basados en alcohol no son efectivos frente a *Cryptosporidium*<sup>11</sup>.

Otras medidas de precaución que deben tomarse es practicar sexo seguro y evitar tragar agua cuando se nada en lagos y piscinas ya que estos protozoos pueden transmitirse por estas vías<sup>23</sup>. En concreto, *Cryptosporidium* es extremadamente tolerante a halógenos (como cloro o yodo) y la desinfección con estos agentes a concentraciones habituales tampoco es útil frente a *Cyclospora* o *Giardia*<sup>11, 23</sup>.

Una revisión de estudios realizada en 2015 constató que la mejora de la higiene ha reducido el riesgo de DV en un 20% o más para una estancia mayor a 2 semanas entre el 8 y el 20% de los destinos en países en vías de desarrollo<sup>40</sup>.

## CONCLUSIÓN

En las últimas décadas los movimientos internacionales de personas han aumentado en gran medida facilitando la adquisición de enfermedades como la diarrea del viajero. Sin embargo, aunque las tasas han disminuido, sigue siendo uno de los principales problemas de salud relacionados con los viajes pudiendo alcanzar prevalencias alrededor del 30%. La etiología parasitaria de la misma es poco común en comparación con la bacteriana. No obstante, una diarrea parasitaria no tratada puede derivar en un cuadro más grave y duradero, especialmente en pacientes más susceptibles como pueden ser los inmunocomprometidos. Es fundamental tener en cuenta a los protozoos parásitos a la hora de solicitar pruebas diagnósticas para poder detectarlos y aplicar el tratamiento adecuado. Además, es muy importante facilitar al viajero consejos profilácticos para evitar la adquisición de esta patología, ya que es fácilmente prevenible.

## BIBLIOGRAFÍA

1. UNWTO. *World Tourism Barometer vol.14*. Marzo 2016. Obtenido de: [http://cf.cdn.unwto.org/sites/all/files/pdf/unwto\\_barom16\\_02\\_march\\_excerpt.pdf](http://cf.cdn.unwto.org/sites/all/files/pdf/unwto_barom16_02_march_excerpt.pdf) (último acceso 9 Abril 2016)
2. UNWTO. *Panorama OMT del Turismo Internacional*. 2015. Obtenido de: <http://www.e-unwto.org/doi/pdf/10.18111/9789284416875> (último acceso 9 Abril 2016)
3. Aubry C, Gaudart J, Gaillard C, Delmont J, Parola P, Brouqui P, *et al.* Demographics, health and travel characteristics of international travellers at a pre-travel clinic in Marseille, France. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2012;10:247–256.
4. Ministerio de Sanidad y Política Social. *Estrategias básicas de abordaje de las enfermedades infecciosas en inmigrantes, viajeros e inmigrantes viajeros*. España. 2009. Obtenido de: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/promocion/migracion/docs/estrategiasBasicasEnfInfImpor.pdf> (último acceso 28 febrero 2016)
5. Larocque RC, Rao SR, Lee J, Ansdell V, Yates JA, Schwartz BS, *et al.* Global TravEpiNet: A national consortium of clinics providing care to international travelers-analysis of demographic characteristics, travel destinations, and pretravel healthcare of high-risk US international travelers, 2009-2011. *Clinical Infectious Diseases*. 2012;54(4):455–462.
6. Leder K, Torresi J, Libman MD, Cramer JP, Castelli F, Schlagenhauf P, *et al.* GeoSentinel surveillance of illness in returned travelers, 2007-2011. *Ann Intern Med*. 2013;158(6):456–468.
7. Ministerio de Sanidad y Consumo. *Estudio de Inmigración y Salud Pública: enfermedades infecciosas importadas*. España. 2008. Obtenido de: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/promocion/migracion/docs/estudioInmigracion.pdf> (último acceso 28 febrero 2016)
8. Ministerio de Sanidad y Política Social. *Enfermedades infecciosas importadas por inmigrantes residentes en España que se desplazan temporalmente a sus países de origen (VFRs)*. España. 2009. Obtenido de: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/promocion/migracion/docs/enfInfImporPaísesOrigen.pdf> (último acceso 28 febrero 2016)
9. Rojo Marcos G, Cuadros González J, Arranz Caso A. Enfermedades infecciosas importadas en España. *Med Clin (Barc)*. 2008;131(14):540–550.
10. Alonso Socas MMA, Alemán R, López Lirola A, Castellano A, Martín Ponce A, Gomez Sirvent JL. Diarrea del viajero Diarrhoea in the traveller. *An Sist Sanit Navar*. 2006;29(Suplemento 1):127–138.
11. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Yellow Book 2014 (updated 2016) online*. <http://wwwnc.cdc.gov/travel/page/yellowbook-home-2014> (último acceso 6 marzo 2016)
12. Ministerio de Sanidad y Consumo. *Enfermedades infecciosas importadas por viajeros internacionales a los trópicos*. España. 2009. Obtenido de: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/promocion/migracion/docs/enfInfImpViajerosTropicos.pdf> (último acceso 28 febrero 2016)

13. Zboromyrska Y, Hurtado JC, Salvador P, Alvarez-Martínez MJ, Valls ME, Mas J, *et al.* Aetiology of traveller's diarrhoea: Evaluation of a multiplex PCR tool to detect different enteropathogens. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20:O753–759.
14. Paschke C, Apelt N, Fleischmann E, Perona P, Walentiny C, Löscher T, *et al.* Controlled study on enteropathogens in travellers returning from the tropics with and without diarrhoea. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:1194–200.
15. Agnamey P, Djeddi D, Oukachbi Z, Totet A, Raccurt CP. *Cryptosporidium hominis* and *Isospora belli*. Diarrhea in Travelers returning from West Africa. *Journal of Travel Medicine.* 2010;17(2):141–142
16. Castañeda Pomeda M, Bragulat Baur E. La diarrea del viajero. *Emergencias.* 2008;20:260–268.
17. Vassalos CM, Vassalou E, Dr. Godfrey Lule (Ed.). Traveller ' s Diarrhoea and Intestinal Protozoal Diarrhoeal Disease. *Current Concepts in Colonic Disorders.* InTech. 2012:105–140
18. Hill DR, Ryan ET. Management of travellers' diarrhoea. *BMJ.*2008;337:a1746
19. Diemert DJ. Prevention and self-treatment of traveler's diarrhea. *Clinical Microbiology Reviews.* 2006;19(3):583–594.
20. Hearn P, Doherty T. Diarrhoea in travellers. *Medicine (United Kingdom);* 2014;42(2):84–88
21. Cabada Bouche J, Du Pont HL. New Developments in Traveler's Diarrhea. *Gastroenterology & Hepatology.* 2011;7(2):88–95.
22. Yates J. Traveler's Diarrhea. *American Family Physician.* 2005;71(11):2095–20100
23. Ministerio de Sanidad y Consumo. *Guía de enfermedades infecciosas importadas.* España. 2008. Obtenido de: [http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/promocion/migracion/docs/Guia\\_EnfInfImp.pdf](http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/promocion/migracion/docs/Guia_EnfInfImp.pdf) (último acceso 28 febrero 2016).
24. Beraun-Villa M, Valdez LM. Diarrea del viajero. *Rev Medica Hered.* 2013;24:54–61.
25. Shah N, Du Pont LH, Ramsey DJ. Global etiology of travelers' diarrhea: systematic review from 1973 to the present. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;80(4):609–614.
26. Reunion científica de RICET. *Informe de resultados de la Red Cooperativa de Infecciones Importadas por Viajeros e Inmigrantes +REDIVI.* España. 2015. Obtenido de: <http://www.ricet.es/media/13199/informe-de-resultados-plusredivi-2014.pdf> (último acceso 19 marzo 2016)
27. Freedman DO, Weld LH, Kozarsky PE, Fisk T, Robins R, von Sonnenburg F, *et al.* Spectrum of disease and relation to place of exposure among ill returned travelers. *New England Journal of Medicine.* 2006;354(2):119–130.
28. Odolini S, Parola P, Gkrania-Klotsas E, Caumes E, Schlagenhauf P, López-Vélez R, *et al.* Travel-related imported infections in Europe, EuroTravNet 2009. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:468–474.
29. Zamarrón Fuertes P, Pérez-Ayala A, Pérez Molina JA, Norman FF, Monge-Maíllo B, Navarro M, *et al.* Clinical and epidemiological characteristics of imported infectious diseases in Spanish travelers. *Journal of Travel Medicine.* 2010;17(5):303–309.
30. Ardley C, Wright S. Traveller's diarrhea. *Medicine.* 2009;38:1

31. Kaiser L, Surawicz CM. Infectious causes of chronic diarrhoea. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*; 2012;26:563–571.
32. Connor BA, Riddle MS. Post-infectious sequelae of travelers' diarrhea. *Journal of Travel Medicine*. 2013;20(5):303–312.
33. Chacín-Bonilla L. Epidemiology of *Cyclospora cayetanensis*: A review focusing in endemic areas. *Acta Tropica*. 2010;115:181–193.
34. Herbinger KH, Fleischmann E, Weber C, Perona P, Löscher T, Bretzel G. Epidemiological, clinical, and diagnostic data on intestinal infections with *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* among returning travelers. *Infection*. 2011;39:527–535.
35. Gaafar MR. Evaluation of enzyme immunoassay techniques for diagnosis of the most common intestinal protozoa in fecal samples. *International Journal of Infectious Diseases*; 2011;15:e541–4.
36. Juan C, Weitz V, Carolina Weitz R, Marilena Canales R, Ruy Moya R. Infección por *Cyclospora cayetanensis*. Revisión a propósito de tres casos de diarrea del viajero. *Rev Chil Infect*. 2009;26(6):549–554.
37. Ten Hove RJ, Van Esbroeck M, Vervoort T, Van Den Ende J, Van Lieshout L, Verweij JJ. Molecular diagnostics of intestinal parasites in returning travellers. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;28:1045–1053.
38. Putignani L, Menichella D. Global distribution, public health and clinical impact of the protozoan pathogen cryptosporidium. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. 2010;2010.
39. Muñoz Gutiérrez J, Aldasoro E, Requena A, Comin AM, Pinazo MJ, Bardají A, et al. Refractory giardiasis in Spanish travellers. *Travel Med Infect Dis*. 2013;11:126–9.
40. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. BOT PLUS 2.0. <https://botplusweb.portalfarma.com/> (último acceso 9 marzo 2016).