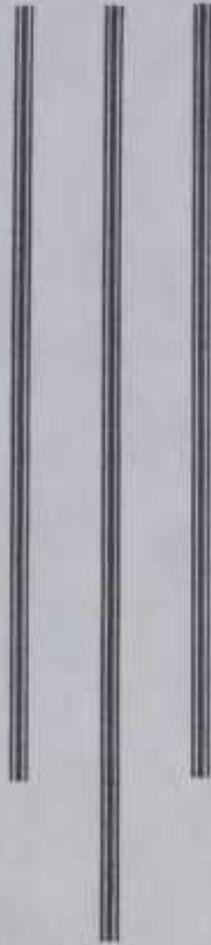




UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
 FACULTAD DE MEDICINA
 DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
 HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ



Identificación del genotipo de *Blastocystis* sp. y su relación con severidad de las manifestaciones clínicas. Evaluación por técnica de biología molecular (PCR).

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
 ESPECIALISTA EN:

INFECTOLOGÍA

P R E S E N T A:

Dr. Raymundo Alcántara Diego

TUTOR:

Dr. José Luis Romero Zamora



CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

REVISIÓN DE TESIS: Identificación del genotipo de Blastocystis sp. y su relación con severidad de las manifestaciones clínicas. Evaluación por técnica de biología molecular (PCR). Que para obtener el título de especialista en Infectología presenta Dr. Raymundo Alcántara Diego.

Vo.Bo. Dr. Sarbelio Moreno Espinosa

Director de Enseñanza y Desarrollo Académico



Vo.Bo. Dr. José Luis Romero Zamora

Médico Adscrito del Departamento de Infectología

Tutor de Tesis

AGRADECIMIENTOS

Por su colaboración en el procesamiento de las muestras de los pacientes para el presente estudio a:

Dra. en C. Guillermina Campos del Laboratorio de Investigación en Enfermedades Infecciosas del HIMFG

Fís. Josue Esau Romero Ibarra del Laboratorio Universitario de Microscopia Electrónica (LUME) Instituto de Investigaciones en Materiales (IIM) UNAM

Q.F.B. Marcela Jiménez Jiménez del Laboratorio de Parasitología HIMFG

Dr. Juan Soriano del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”

DEDICATORIAS

Agradezco a Dios, quien creo nos acompaña en todo lugar y momento.

En forma amplia agradezco a mis padres quienes siempre han sido un apoyo incondicional, aún en los tiempos más difíciles, sin duda en su ausencia no podría haber llegado a esta etapa académica.

A la familia de mi madre, amigos más cercanos, sin olvidar aquellos fuera del ámbito médico (Dani y Lalo), y a las familias de mis amigos, porque en con su compañía, apoyo, cariño y estimación cada día vale la pena, un paso más fishines.

A mis profesores, aquellos en cuya tutela inicie la formación en el pensamiento científico, con particular aprecio a la Facultad de Química UNAM, Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB) UNAM y Facultad de Medicina UNAM; y en este sentido también a los valiosos amigos y compañeros que tuve el placer de conocer en estas instituciones, de quienes de igual forma aprendí, y además tuve el gusto de compartir experiencias personales, brindándome cariño y amistad, dentro y fuera de las aulas, al equipo de trabajo del Dr. Enrique Ortega y del Dr. Rafael Saavedra del IIB UNAM, y a Yudi y Bere.

A los médicos y personal de salud que en calidad de maestros, compañeros y amigos tuve la oportunidad de conocer, durante toda mi formación médica previa a mi ingreso al Hospital Infantil de México, con especial cariño a mis compañeras de internado Dani y Normita, en cuya compañía enfrenté probablemente las jornadas más difíciles en materia de rendimiento físico que se experimenta en esta profesión, gracias por su apoyo.

A los médicos, compañeros residentes y adscritos del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”, quienes han contribuido a mi formación cada día en la práctica clínica, mostrándome la complejidad de esta profesión, que ciertamente implica elementos de arte y ciencia.

A mis pacientes, los niños a quienes en estos últimos años de formación he tenido la oportunidad de atender, y a los que espero haber ayudado, gracias a ellos uno puede volverse un mejor médico y ser humano.

INDICE

| | |
|---|----|
| Antecedentes..... | 4 |
| Marco teórico | 7 |
| Planteamiento del problema | 9 |
| Pregunta de investigación..... | 10 |
| Justificación..... | 10 |
| Hipótesis | 11 |
| Objetivos (General, y Específicos)..... | 11 |
| Material y Métodos | 12 |
| Plan de análisis estadístico | 16 |
| Descripción de variables..... | 16 |
| Resultados..... | 23 |
| Discusión..... | 30 |
| Conclusiones..... | 33 |
| Cronograma de actividades..... | 35 |
| Referencias bibliográficas..... | 36 |
| Limitaciones del estudio | 40 |

ANTECEDENTES

Blastocystis sp. es un parásito protozoo, el cual pertenece al super grupo Chromalveolata, en el cual también se encuentran las algas marrones y las diatomeas, se caracterizan por ausencia de flagelos, metabolismo anaeróbico (posee mitocondrias, pero carece de las enzimas que llevan a cabo la respiración aeróbica), y presentar 2 o más núcleos.¹

Blastocystis sp. presenta dimensiones variadas, con un tamaño que va de 2 hasta 200 μm , promedio 40 μm . Se le reconocen 6 estadios morfológicos: ameboide, avacuolar, vacuolar, multivacuolar, granular y quiste.²

Fase ameboide: Mide regularmente de 2.6 a 7.8 μm , pero puede alcanzar hasta 200 μm , tiene 1 o 2 núcleos de 1 μm de diámetro. Adquiere varias disposiciones y proyecta pseudópodos (le sirven para desplazamiento y para fagocitar bacterias). Presenta una membrana con alta capacidad de adherencia a cualquier tipo de epitelio, lo cual facilita su unión con posterior liberación proteasas. Se puede identificar a partir de heces diarreicas. Algunos estudios la reportan como una forma frecuente en pacientes sintomáticos, razón por la cual se ha propuesto como indicador de patogenicidad.^{3,4}

Fase avacuolar: Mide 5 μm y tiene de 1 o 2 núcleos; en su mayor parte está formado por una vacuola la cual, aunque no se sabe con precisión su función, probablemente funciona como almacén de azúcares.^{3,4}

Fase vacuolar: Mide de 4 a 100 μm , es la más común, la mayor parte la ocupa una gran vacuola.^{3,4}

Fase multivacuolar: Mide de 5 a 8 μm , tiene de 1 a 2 núcleos. Es la fase transicional entre las fases vacuolar y quística.^{3,4}

Fase granular: Tiene 1 a 4 núcleos, e incluso más. Es idéntica a la fase vacuolar, pero presenta innumerables gránulos (de contenido no bien determinado, que se ha propuesto puede tratarse de restos metabólicos, moléculas lipídicas o estructuras de reproducción), dentro de la vacuola y el citoplasma; se piensa que es un estadio degenerado.^{3,4}

Fase quística. Tiene 1 o 2 núcleos, no tiene vacuola central, solo vacuolas pequeñas, su tamaño global también es el más pequeño, pero es la forma de mayor resistencia a las condiciones ambientales, Adicionalmente, se afirma que contine 5 estructuras, similares a células hijas encerradas, las cuales al parecer sufren un proceso parecido a la esporulación. Se identifica en las heces formadas.^{3,4}

La vía de transmisión de este protozoo es fecal-oral, al ingerir agua y/o alimentos contaminados, así mismo se plantea la posible existencia de otras vías de transmisión que tienen como denominador común las condiciones higiénico-sanitarias inadecuadas.⁷⁻¹⁰

Blastocystis sp. se excreta al ambiente en las heces, en las formas de trofozoito y quiste. Estas formas infectantes son ingeridas con alimentos y bebidas, alcanzando el estómago y, posteriormente el intestino donde ocurre la fase avacuolar, misma que gradualmente comienza a formar una vacuola, esta vacuola se divide para formar vacuolas más pequeñas, dando lugar a la fase multivacuolar; prosigue la aparición de la fase granular, y finalmente la forma ameboide. En las porciones finales del tracto gastrointestinal, por los cambios en las condiciones de pH y humedad, se forma la fase quística.⁷⁻¹⁰

Blastocystis sp. tiene su hábitat en el íleon y colon; ahí se postula que causa un proceso inflamatorio en la pared a nivel de la lámina propia. Los mecanismos de patogenicidad principalmente propuestos son atribuidos a la presencia de metabolitos de propiedades tóxico-alérgicas, como: cisteín-proteasas, IgAsa. Sus toxinas han mostrado inducir apoptosis por cambios en la permeabilidad epitelial, y provocar un rearrreglo de los filamentos de F-Actina.^{11,12}

Se ha encontrado un alto grado de diversidad genética en los aislamientos de *Blastocystis sp.* basados en diferencias de nucleótidos en la subunidad pequeña (SSU) del RNA ribosomal (rRNA). Hasta el momento, se han identificado 33 subtipos (ST); las secuencias de los subtipos 18 al 33 son parciales. Diez subtipos, ST1-ST9 y ST12 se han reportado en humanos, mismos que, salvo ST9 (que se ha aislado exclusivamente en humanos), se han aislado también de mamíferos y aves, sugiriendo potencial transmisión zoonótica.^{5,6}

- ST1: humanos, aves y algunos otros mamíferos.
- ST2: primates.
- ST3: humanos y cerdos.
- ST4: humanos y roedores.
- ST5: humanos, cerdos y bovinos.
- ST6 y ST7: humanos y aves.
- ST8: aves y primates.
- ST9: humanos.
- ST12: humanos.

Por lo anterior se ha propuesto la desaparición de la denominación como *Blastocystis hominis*, y se plantea identificarlo como el género *Blastocystis sp.*, y especificar el subtipo del aislamiento.^{5,6}

La infección en humanos se presenta con un patrón de distribución mundial, se estima que se encuentra presente en aproximadamente mil millones de personas, mayoritariamente en regiones tropicales y subtropicales, con una frecuencia promedio de 10% en países desarrollados y hasta 50% en países en vías de desarrollo, siendo la protozoosis más frecuente en América Latina, particularmente asociado a los estratos socioeconómicos más bajos, y a pacientes con inmunodeficiencias.^{11,12}

De los subtipos informados en humanos, ST1 a ST4 son los más frecuentes a nivel mundial, constituyendo hasta 90% de las identificaciones. En estudios realizados en diferentes regiones del Sureste asiático se reporta a ST3 como el subtipo más frecuente, seguido de ST1, posteriormente ST2, y en último lugar ST 4. En estudios realizados en la mayoría de las regiones de Europa, África, Asia y Australia también reportan a ST-3 como el subtipo más frecuente causante de infección en humanos; en las Américas algunos estudios señalan a ST-1 y otros a ST-3 como el subtipo más frecuente, en cuanto ST-4 es reportado como el subtipo más frecuente únicamente en relación con posiciones geográficas muy específicas como España, algunas regiones de Gran Bretaña, Dinamarca y Australia y en Nepal.¹³⁻¹⁶

La caracterización molecular para identificar subtipos presentes en muestras de heces es fundamental para desentrañar la epidemiología de *Blastocystis sp.*, así como para caracterizar las diferencias a nivel de subtipo en la especificidad del hospedero y su potencial patogenicidad. Las infecciones por múltiples subtipos en forma simultánea son relativamente frecuentes y se han advertido gracias a la aplicación de técnicas como secuenciación de amplicones.^{14,16-19}

Inicialmente la presencia del parásito en un paciente se establece mediante coproparasitoscópicos (CPS) de concentración en donde se identifica la forma quística (materia fecal formada), si la muestra es diarreica, lo indicado son CPS directos a fin de identificar las demás fases del protozoo.^{20,21}

Adicionalmente, se puede realizar frotis directo con tinción de hematoxilina férrica o la denominada “tricrómica de Gomori” a partir de la muestra en fresco, para diferenciar con mayor claridad las estructuras internas. Los medios de cultivo más empleados son el medio de Robinson, Dulbecco, Jones, y el de huevo.^{20,21}

Las pruebas serológicas que se pueden emplear son la inmunofluorescencia, el inmunoblot y el inmunoensayo enzimático (ELISA). Dentro de los métodos por biología molecular destaca, como ya se ha mencionado, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), y las técnicas de secuenciación.²²⁻²⁶

Así mismo, en un intento de relacionar los estudios moleculares con la aplicación clínica, se ha reportado el empleo potencial de una prueba para la determinación de un fragmento de 29 KDa, como marcador de patogenicidad; teóricamente permitiendo atribuir la clínica, ante un resultado positivo, pero esta prueba aún se encuentra en fase de investigación.²⁷

Una de las posturas que puede considerarse en la actualidad, a reserva de la evidencia que se vaya generando, es atribuir un rol patógeno a *Blastocystis sp.*, de manera que una vez identificado, y en caso de que exista clínica acompañante, se administre tratamiento. Para lo cual se emplea Metronidazol V.O. en dosis de 30 a 40 mg/Kg día por 10 días; Trimetoprim con Sulfametoxazol 10 mg/Kg día (con base a Trimetoprim), durante 10 días ó Nitazoxanida 7.5 mg/Kg día durante 3 días. Otros fármacos que han sido empleados son Diyodohidroxiquinoleina, Tinidazol, Furazolidona, Ciprofloxacina y Paromomicina con eficacia variable. Es necesario corroborar en CPS al finalizar los esquemas de tratamiento, ya que su persistencia asociada a manifestaciones clínicas, sugiere la existencia de infecciones ocasionadas con potenciales cepas resistentes, lo que en caso de confirmarse, posteriormente, su rol patógeno, haría patente la necesidad de contar con nuevas opciones terapéuticas.²⁸

Es necesario priorizar las medidas de higiene, ampliamente conocidas para la prevención de este tipo de parasitosis, destacando el lavado de manos (particularmente antes de ingerir alimentos y después de hacer uso del sanitario); correcta disposición de excretas; manejo higiénico de bebidas y alimentos y; el control de transmisores biológicos como moscas, cucarachas y otros insectos.⁷⁻⁹

MARCO TEÓRICO

A pesar de numerosos estudios, persiste la controversia sobre su papel comensal vs patógeno, ya que se ha aislado frecuentemente en muestras de heces de individuos sanos y con síntomas gastrointestinales. También ha sido considerado un agente oportunista, por su alta prevalencia en pacientes inmunosuprimidos, específicamente en oncológicos (principalmente con cáncer colorrectal y de mama), y con VIH/SIDA.^{18, 29-40.}

La controversia respecto a su papel patógeno puede deberse a la existencia de sus diferentes subtipos (STs), con consecuente heterogenicidad y diversidad morfológica, que potencialmente podrían presentar diversos grados de patogenicidad, esta variabilidad se ha estudiado mediante técnicas de biología molecular donde se le ha caracterizado como un organismo genética y antigénicamente diverso, en posible relación con el origen geográfico de los aislamientos, entre otros factores.^{5-7, 14, 22}

Varios STs se han relacionado directamente con sintomatología gastrointestinal y extraintestinal, encontrándose con mayor frecuencia el ST3, seguido de ST1 y ST2.^{5-7, 14, 22}

En un estudio realizado en Oregon, EU, se encontró la presencia de *Blastocystis sp* en 5 de 19 pacientes que experimentaban clínica, que clásicamente se le ha atribuido a este parásito como es dolor abdominal, fatiga, diarrea, estreñimiento, artralgias y rash, estos sujetos resultaron positivos para los STs 1,2,3,4 y 8, sin asociación consistente entre la sintomatología y el subtipo identificado; sin embargo, la diversidad genética encontrada remarca los potenciales orígenes diferentes de la infección, abriendo la interrogante sobre nuevas fuentes y vías de contagio.^{22, 41}

Deeb y cols (Egipto). reportan al subtipo ST3 como el más común (83.3%), seguido del ST1 (16.7%), cuya presencia se relacionaba con manifestaciones clínicas por deficiencia de hierro.⁴²

Como parte de una casuística realizada en un estudio con 250 niños a quienes se les detectó *Blastocystis sp.*, y una vez descartada la participación de otros enteropatógenos, se encontró que 218 de ellos cursaron con sintomatología (87.2%), y 32 fueron asintomáticos (12.8%). Los signos y síntomas más frecuentes fueron: dolor abdominal en 171 casos (78.44%), diarrea en 140 casos (64.22%), flatulencia en 52 casos (23.85%), meteorismo en 43 casos (19.72%), constipación intestinal en 40 casos (18.34%), náusea en 18 casos (8.25%), hiporexia en 16 casos (7.33%), vómito en 7 casos (3.21%), fiebre en 5 casos (2.29%) y exacerbación de un proceso alérgico de base en 4 casos (1.83%). Las manifestaciones más frecuentes se han relacionado con el síndrome conocido como colon irritable, así como urticaria.⁵⁸

En relación puntual con el cuadro de urticaria crónica, ampliamente estudiado en asociación con la infección con numerosos parásitos, protozoos y helmintos, un metaanálisis realizado sobre 39 estudios concluyó que la urticaria crónica se presenta con mayor frecuencia, con diferencia estadísticamente significativa respecto de los grupos de control, en pacientes con infección por *Anisakis sp.*, *Blastocystis sp.*, y *Strongyloides sp.*, los autores proponen un mecanismo inmunitario de sensibilización de eosinófilos y mastocitos con los antígenos parasitarios que conduce a una respuesta Th2 exacerbada, como la explicación fisiopatológica de esta asociación.³⁵

Abdel Hameed y Hassanin en Egipto, estudiaron la relación de la infección por *Blastocystis sp.* y la presencia de urticaria aguda y crónica, postulan que el potencial patógeno de éste parásito se atribuye, más al subtipo, a la fase presente, ya que encontraron que todos los pacientes con urticaria y todos los individuos asintomáticos del grupo control, presentaban la infección por ST-3; sin embargo, la mayoría de los pacientes con urticaria presentaban la infección por la fase amebode.⁴³

En Latinoamérica se han desarrollado pocas investigaciones en humanos orientadas a identificar y definir la prevalencia, coinfección y potencial patógeno de *Blastocystis sp.*, siendo el conocimiento escaso e inespecífico, lo que motiva la necesidad de nuevos estudios. En México, la mayoría de los estudios moleculares se han realizado para evaluar la asociación entre *Blastocystis sp.* y el síndrome del intestino irritable.

El empleo de la técnica de secuenciación por amplicones permitió llevar a cabo la identificación de los STs más frecuentes dentro de una población rural en Morelos, México, encontrándose en primer lugar al ST-3, seguido del ST 2 y en tercer lugar ST 1, con una frecuencia de positividad de aislamiento similar entre individuos sintomáticos y asintomáticos, así mismo se destaca una mayor posibilidad de infección por ST-1 en relación con la convivencia con animales de granja, lo que sugiere relación con la posible fuente de infección.⁴⁴

Un estudio similar al que nos planteamos en el presente trabajo, fue llevado a cabo por Naseef Jassim et al., en Irak, realizado en muestras de heces de 100 niños menores de 10 años con cuadros diarreicos, con una frecuencia de infección por *Blastocystis sp.* del 8%, de lo cuales el 75% eran menores de 2 años, 37.5% eran hijos de madres con bajo nivel educativo, y 75% presentaban convivencia estrecha con animales en el domicilio; en cuanto a los estudios por biología molecular de estas infecciones, el 100% resultó positiva para el ST-3, lo que sugiere a este subtipo con el potencial responsable de los cuadros clínicos gastrointestinales.⁴⁵

Adicionalmente en la literatura hay reportes de casos con hipoalbuminemia y anasarca, así como casos de artritis reactiva. En ausencia de tratamiento, la clínica puede prolongarse por semanas, meses e incluso años, de manera intermitente.³⁴

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

En la actualidad, aun cuando se trata de una de las parasitosis que con más frecuencia se identifica en la población mexicana, y a nivel mundial, la presencia de *Blastocystis sp.* no ha terminado de establecerse como propia de un rol patógeno o comensal, si bien existen artículos donde se le reporta presente en individuos asintomáticos y sintomáticos (principalmente con clínica gastrointestinal), quedando entonces por esclarecerse cuales variables propias del protozoo, del ambiente y del hospedero favorecen la aparición de clínica.

En cuanto a los factores propios de *Blastocystis sp.*, una de las variables que podrían contribuir al desarrollo de clínica es que se trate de la infección de algunos STs en específico, mismos que en teoría podrían expresar diferentes factores de virulencia, una de las formas más confiables de determinar el o los subtipos de *Blastocystis sp.* presentes en el intestino de un individuo es mediante el análisis de una muestra de heces con posterior extracción de DNA, y aplicación de técnicas de biología molecular (destacando PCR y secuenciación); y una vez identificados los subtipos presentes analizar la posible asociación de subtipos en específico con la aparición de síntomas.

Adicionalmente, al contar con información de relevancia clínica y paraclínica de los individuos, cuyas muestras fueron analizadas, identificar la posible presencia de factores de riesgo, como edad, sexo, comorbilidades, distribución geográfica y las condiciones higiénicas., que potencialmente llevarían a la aparición de un cuadro clínico.

En conjunto, la obtención de la información previamente descrita, contribuiría determinar a *Blastocystis sp.* como un agente comensal o patógeno, con un proceso de análisis crítico de datos provenientes de nuestra población (reflejando los subtipos propios de nuestra región, y de manera indirecta factores que intervienen en el proceso tales como comorbilidades, genética del hospedero y su ambiente).

Entre otros, el esclarecimiento de un potencial rol patógeno de *Blastocystis sp.* (o únicamente de algunos de sus subtipos), nos permitiría establecer la necesidad de administrar tratamiento, y/o conocer las implicaciones de su presencia en el proceso de salud-enfermedad de los pacientes.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe una relación entre la infección con subtipos determinados de *Blastocystis sp.* y la aparición de sintomatología, particularmente de tipo gastrointestinal, en pacientes con y sin comorbilidades?

JUSTIFICACIÓN

Un estudio retrolectivo, observacional, transversal, buscando determinar la posible relación entre la infección por determinados subtipos de *Blastocystis sp.*, identificados mediante técnicas de biología molecular (PCR y secuenciación), y la aparición de sintomatología, particularmente de tipo gastrointestinal, en pacientes con y sin comorbilidades, contribuiría al esclarecimiento del papel de *Blastocystis sp.* como un patógeno en función de los determinados STs, lo que a su vez podría atribuirse a la potencial expresión de factores de virulencia y/u otros cambios fenotípicos.

El establecimiento pleno de un rol patógeno de algunos subtipos de *Blastocystis sp.* permitiría juzgar la pertinencia de administrar un tratamiento antiparasitario en búsqueda de su control y/o erradicación en casos con manifestaciones clínicas significativas, a fin de reducir su morbilidad.

Adicionalmente, dentro del plano epidemiológico, un estudio de los subtipos de *Blastocystis sp.* presentes en nuestra población permitiría obtener valores como frecuencias relativas, posible relación con regiones geográficas, y/o convivencia con algunos tipos de animales, etc. así como la comparación de las frecuencias reportadas de los subtipos en otras poblaciones.

HIPÓTESIS

H₁: Existe una relación entre la infección con subtipos determinados de *Blastocystis sp.* y la aparición de sintomatología, particularmente de tipo gastrointestinal, en pacientes con y sin comorbilidades.

OBJETIVO GENERAL

-Determinar la presencia o ausencia de manifestaciones clínicas, así como alteraciones paraclínicas por BH y niveles de IgE, en la infección por *Blastocystis sp.* en la población estudiada

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Determinar las manifestaciones gastrointestinales y extraintestinales más frecuentes en la población estudiada de niños con infección por *Blastocystis sp.*

-Determinar la posible relación entre la infección con subtipos determinados de *Blastocystis sp.* y la aparición de sintomatología, particularmente de tipo gastrointestinal, en pacientes con y sin comorbilidades.

-Conocer la distribución geográfica de los pacientes sintomáticos y asintomáticos para la infección por *Blastocystis sp.*

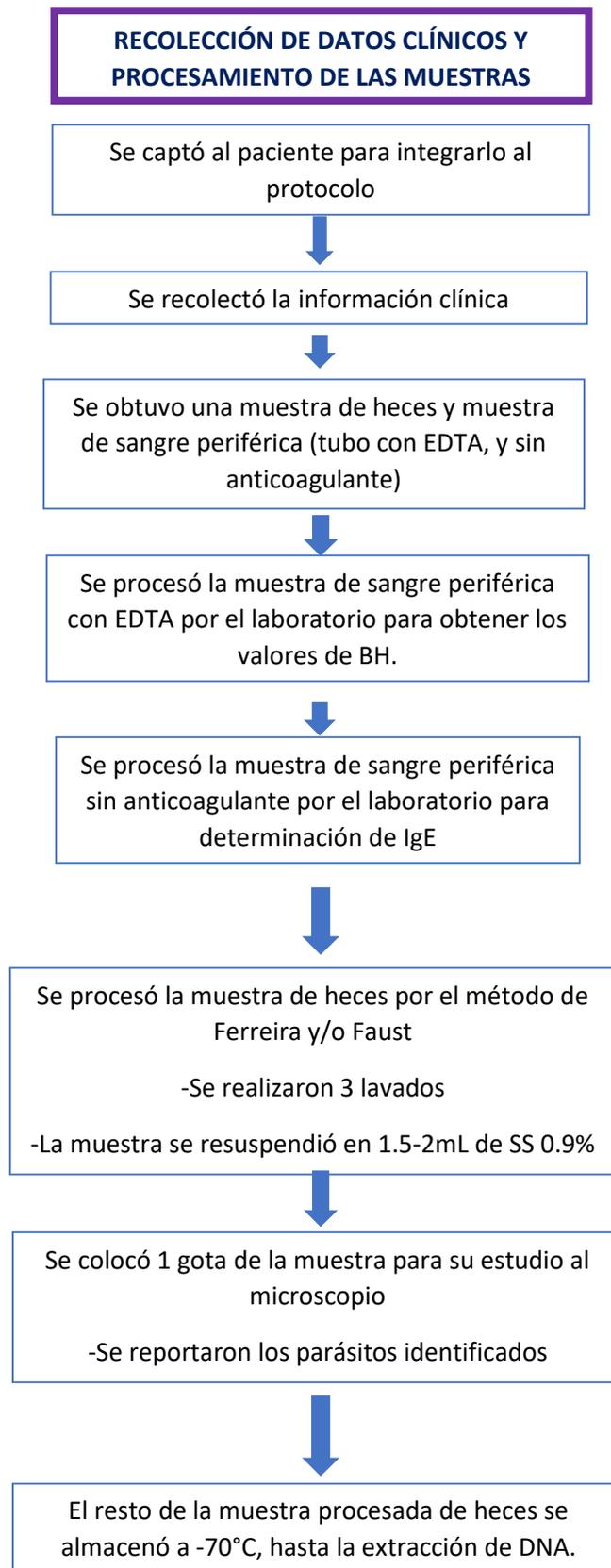
-Describir la frecuencia de los diferentes subtipos de *Blastocystis sp.* en la población estudiada (proveniente de 2 hospitales de concentración ubicados en CDMX).

-Identificar la posible relación entre la infección por subtipos de *Blastocystis sp.* y el desarrollo de comorbilidades.

-Identificar la posible relación entre la infección por subtipos de *Blastocystis sp.* y la convivencia con animales.

-Identificar la posible relación entre la infección por subtipos de *Blastocystis sp.* y otras variables como la edad, sexo o cambios paraclínicos como eosinofilia.

MATERIAL Y MÉTODOS



EXTRACCIÓN DE DNA

Se empleo el estuche comercial Quick-DNA Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit (Zymo Research) N° Catálogo: D-6010.



Se descongelaron las muestras de heces almacenadas a -70°C , y se tomaron $250\mu\text{L}$



Se colocaron los $250\mu\text{L}$ en un tubo de lisis, se adicionaron $750\mu\text{L}$ del Buffer Bashing Bead , y se mezclaron vigorosamente por Vórtex durante 10 min



El tubo con la mezcla de lisis se centrifugó a $10,000\text{ Xg}$ durante 1 min.



Se transfirieron $400\mu\text{L}$ del sobrenadante a un filtro, y se centrifugó a $8,000\text{ X g}$ durante 1 minuto.



Se adicionaron $1200\mu\text{L}$ de Buffer de lisis genómica al filtrado y se mezcló por pipeteo.



Se transfirieron $800\mu\text{L}$ de la mezcla de lisis a la columna de aislamiento, y se centrifugó a $10,000\text{ x g}$ por 1 minuto. (Este paso se repitió para pasar los restantes $800\mu\text{L}$ de lisado por la columna de aislamiento).



Se realizaron 2 lavados de la columna de aislamiento



Se eluyó la columna de aislamiento en un tubo para coleccionar el extracto de DNA. El DNA se almacenó en refrigeración hasta la realización de la PCR.

**PCR PARA 5SU-rDNA DE *Blastocystis sp.* EN
EXTRACTO DE DNA DE LAS MUESTRAS**

Se empleó el estuche comercial Dream Taq Green PCR Master Mix 2X (Thermo Scientific) N° catálogo: K-1081



Se formó la mezcla de reacción en un tubo de 50µL con:

- 25 µL de la Master Mix 2X
- 0.5µL de cada uno de los primers
(RhRDr: GAGCTTTTAACTGCAACAACG: Region 5' del gen 5SU-rDNA de *Blastocystis sp.*)
(RD5: ATCTGGTTGATCCTGCCAGT: Amplio espectro para eucariontes)
- 1µL del extracto de DNA de las muestras problema
- Agua libre de nucleasas. c.b.p. para llevar a 50µL



Se mezcló suavemente y se dio un pulso de centrifuga, para posteriormente colocar en el termociclador Mini Amp Thermo Cycle (Applied Biosystems).



Se estableció un programa de amplificación con:

- Temperatura inicial de 95°C por 3 min.
- Posteriormente 35 ciclos de: Desnaturalización a 95°C 30s, Alineamiento 58°C 30s, y Extensión 72°C 1 min.
- Extensión final a 72°C por 1 min.

**ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA A 1.5% DE
AMPLIFICADO POR PCR**



Los productos de amplificación se corrieron en un gel de agarosa al 1.5% de NORGEN Biotek (N° Catálogo: 28034)



El gel fue teñido con el intercalante Sybr Safe DNA Gel Stain Invitrogen (N° Catálogo: S 33102)



El corrimiento se realizó durante 45 min a 100 V



Se observó el gel en el fotodocumentador para revelar la presencia esperada del amplificado de 600bp 5SU-rDNA DE *Blastocystis sp.*

PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Dados la realización, al momento, de análisis sobre la información clínica y paraclínica de los pacientes, quedando pendiente la secuenciación de subtipos de *Blastocystis sp.* que conllevan la necesidad de la aplicación de estadística más avanzada, al momento nos limitamos a la descripción de la información colectada en la forma de frecuencias/proporciones sobre el total de casos.

DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

| Variable | Definición Conceptual: | Definición Operacional: | Tipo de Variable: | Escala de Medición: |
|----------------------------------|--|--|-----------------------|---|
| Sexo | Asignación biológica de un individuo en relación con órganos sexuales (fenotipo), o cariotipo. | Sexo que hace constar en los documentos de información personal recabada del paciente. | Nominal tricotómica | -Masculino -Femenino -Indeterminado |
| Edad | Tiempo transcurrido desde el primer día de vida extrauterina hasta el momento de la obtención de la muestra procesada en el presente estudio. | Edad cronológica registrada en los documentos de información personal recabada del paciente. | Cuantitativa discreta | -Años |
| Estado y municipio de residencia | Entidad federativa, y municipio correspondiente, donde habita el paciente al momento de la obtención de la muestra procesada en el presente estudio. | Entidad federativa y municipio donde se localiza su vivienda al momento de la obtención de la muestra procesada en el presente estudio, registrados en los documentos de información personal recabada del paciente. | Nominal politómica. | |
| Peso | Peso del paciente expresado en Kg. | Peso del paciente expresado en Kg registrado en los documentos de | Cuantitativa continua | -Kg con 2 cifras significativas a la derecha del punto decimal. |

| | | | | |
|--|---|---|-----------------------|--|
| | | información personal recabada del paciente. | | |
| Talla | Talla del paciente expresada en m. | Talla del paciente expresada en m registrada en los documentos de información personal recabada del paciente | Cuantitativa continua | -m con 2 cifras significativas a la derecha del punto decimal. |
| Índice de Masa Corporal (IMC) | Cifra que resulta de dividir el Peso del paciente en Kg/ Talla del paciente elevada al cuadrado (Indicador parcial de la constitución corporal del paciente). | Cálculo del IMC con el peso y talla del paciente. | Cuantitativa continua | -Valor numérico adimensional con 2 cifras significativas a la derecha del punto decimal. |
| Acceso al agua para consumo. | Tipo de acceso a agua para consumo. | Forma de acceso a agua para consumo de acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente en la forma de tubería de agua potable VS otras formas (Pozo, cisterna, abastecimiento con pipas, etc.). | Nominal politómica | -Tubería de agua potable. -Pozo -Pipa. -Otros |
| Hacinamiento | Presencia de número excesivo de habitantes de un domicilio que dificulta el mantener la mínima distancia del espacio personal. | Presencia de ≥ 3 habitantes/ cuarto para dormir, de acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente. | Nominal dicotómica | -Hacinamiento positivo -Hacinamiento negativo |
| Convivencia con animales domésticos Ej perros o gatos | Presencia en el domicilio, o en el entorno inmediato del mismo, de perros o gatos. | Presencia de animales de perros o gatos de acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente. | Nominal dicotómica | -Convivencia con animales domésticos. -Sin convivencia con animales domésticos. |

| | | | | |
|--|--|--|---------------------|--|
| Convivencia con otros animales | Convivencia con otros animales Ej. por motivos laborales | Convivencia con otros animales, de acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente. | Nominal dicotómica | -Convivencia. -Sin convivencia. |
| Alimentación en adecuadas condiciones de higiene | Ingesta de alimentos con bajo riesgo de causar infecciones o intoxicaciones. | De acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente, se considera una alimentación con riesgo de realizarse en adecuadas condiciones de higiene cuando se manifieste directamente o al realizar >1 comida/semana en establecimientos de la vía pública. | Nominal dicotómica | -Alimentación con adecuadas condiciones de higiene. -Alimentación sin adecuadas condiciones de higiene. |
| Comorbilidad/ Patologías, además de la infección por <i>Blastocystis sp.</i> | Diagnóstico(s) de enfermedad (es) en el paciente. | De acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente, registro del diagnóstico(s) de enfermedad (es) establecido por facultativo o institución hospitalaria pública o privada. | Nominal politómica. | Ej.: Asma, rinitis alérgica, colon irritable, etc. |
| Síntomas sistémicos | Sintomatología sistémica presente al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | De acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente, presencia de síntomas sistémicos al momento | Nominal politómica | Ej. Fiebre, palidez, astenia/adinamia, irritabilidad, pérdida ponderal. . |

| | | | | |
|-----------------------------|--|--|-----------------------|--|
| | | de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | | |
| Síntomas gastrointestinales | Sintomatología gastrointestinal presente al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | De acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente, presencia de síntomas gastrointestinales al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | Nominal politómica | Ej. Vómitos, náusea, plenitud gástrica, dolor abdominal, evacuaciones disminuidas de consistencia. |
| Síntomas extraintestinales | Sintomatología extraintestinal presente al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | De acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente, presencia de síntomas extraintestinales al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | Nominal politómica | Ej. Dermatitis, dolor articular, sibilancias, tos, etc. |
| Cuenta de Leucocitos | Cuenta de Leucocitos, determinada por biometría hemática en una muestra de sangre periférica, al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | De acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente, cuenta de leucocitos (expresada en Leucocitos/mm ³ de sangre periférica), asentada dentro de la biometría hemática al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | Cuantitativa discreta | Leucocitos/mm ³ de sangre periférica. |

| | | | | |
|-----------------------------------|---|--|-----------------------|---|
| Cuenta de Neutrófilos Segmentados | Cuenta de Neutrófilos segmentados, determinada por biometría hemática en una muestra de sangre periférica, al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | De acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente, cuenta de Neutrófilos segmentados (expresada en Neutrófilos segmentados/mm ³ de sangre periférica), asentada dentro de la biometría hemática al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | Cuantitativa discreta | Neutrófilos Segmentados/mm ³ de sangre periférica. |
| Cuenta de Neutrófilos en Banda | Cuenta de Neutrófilos en banda, determinada por biometría hemática en una muestra de sangre periférica, al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | De acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente, cuenta de Neutrófilos en banda (expresada en Neutrófilos en banda/mm ³ de sangre periférica), asentada dentro de la biometría hemática al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | Cuantitativa discreta | Neutrófilos en Banda/mm ³ de sangre periférica. |
| Cuenta de Linfocitos | Cuenta de Linfocitos, determinada por biometría hemática en una muestra de sangre periférica, al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | De acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente, cuenta de Linfocitos (expresada en Linfocitos/mm ³ de sangre periférica), | Cuantitativa discreta | Linfocitos/mm ³ de sangre periférica. |

| | | | | |
|-----------------------|---|--|-----------------------|---|
| | | asentada dentro de la biometría hemática al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | | |
| Cuenta de Monocitos | Cuenta de Monocitos, determinada por biometría hemática en una muestra de sangre periférica, al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | De acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente, cuenta de Monocitos (expresada en Monocitos/mm ³ de sangre periférica), asentada dentro de la biometría hemática al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | Cuantitativa discreta | Monocitos/mm ³ de sangre periférica. |
| Cuenta de Eosinófilos | Cuenta de Eosinófilos, determinada por biometría hemática en una muestra de sangre periférica, al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | De acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente, cuenta de Eosinófilos (expresada en Eosinófilos/mm ³ de sangre periférica), asentada dentro de la biometría hemática al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. | Cuantitativa discreta | Eosinófilos/mm ³ de sangre periférica. |
| -Elevación de IgE | Aumento de la cantidad circulante del subtipo de inmunoglobulina E en sangre periférica | De acuerdo a los registros en los documentos de información personal recabada del paciente, | Nominal dicotómica | -Sin elevación de IgE -Con elevación de IgE |

| | | | | |
|---|--|--|---------------------|--------------------------------------|
| | (frecuentemente relacionado con infecciones parasitarias y enfermedades de tipo alérgico, entre otros procesos patológicos), al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio | determinación de concentración de IgE en sangre periférica al momento de la recolección de la muestra fecal para el presente estudio. Considerando sin elevación de IgE los valores <100 UI/mL, y con elevación los valores superiores. | | |
| Subtipo(s) de <i>Blastocystis sp</i> , causando infección en el paciente. | Subtipo(s) de <i>Blastocystis sp</i> presentes en la muestra fecal analizada mediante biología molecular. | Secuencias de subtipo(s) de <i>Blastocystis sp</i> , presentes en la muestra fecal del paciente, determinados mediante secuenciación, posterior a la amplificación, mediante PCR, de un segmento de 600 bp del gen SSU-rDNA específico de <i>Blastocystis sp</i> . | Nominal politómica. | -ST1 -ST2 -ST3 -ST4 Etc. |

RESULTADOS

Para el presente estudio se contó con 55 muestras de heces con CPS Ferreira y/o Faust en los que se reportó la presencia de *Blastocystis sp.*; sin embargo, no se encontró la información clínica correspondiente en el caso de 2 pacientes, por lo que la población muestral para análisis de curso clínico se integró con 53 pacientes.

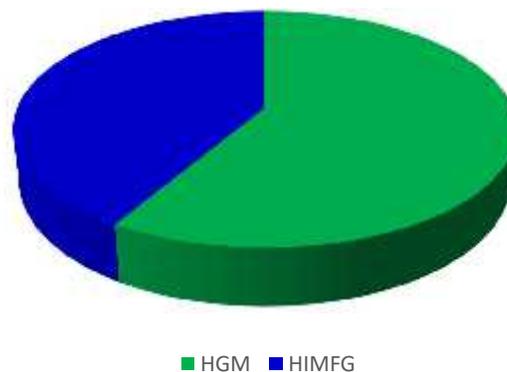
30 hombres (56.6%) y 23 mujeres (43.39%) (Ver Gráfica 1), que en su amplia mayoría se componen de población pediátrica, con una media etaria en 10.45 años (mínimo 2 años-máximo 21 años), 31 pacientes provenientes del Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga" (58.49%) ,y 22 pacientes provenientes del Hospital Infantil de México "Federico Gómez" (41.51%) (Ver Gráfica 2), la amplia mayoría provenientes del centro del país con 32 pacientes (60.37%) del EdoMéx (7 de Ecatepec y 7 de Ciudad Nezahualcoyotl), 14 de CDMX (26.41%), (86.78% de pacientes de CDMX + EdoMéx/área metropolitana), 4 de Hidalgo (7.54%), 1 de Guanajuato, 1 de Veracruz y 1 de Guerrero(Ver Gráfica 3).

Sexo de los Pacientes



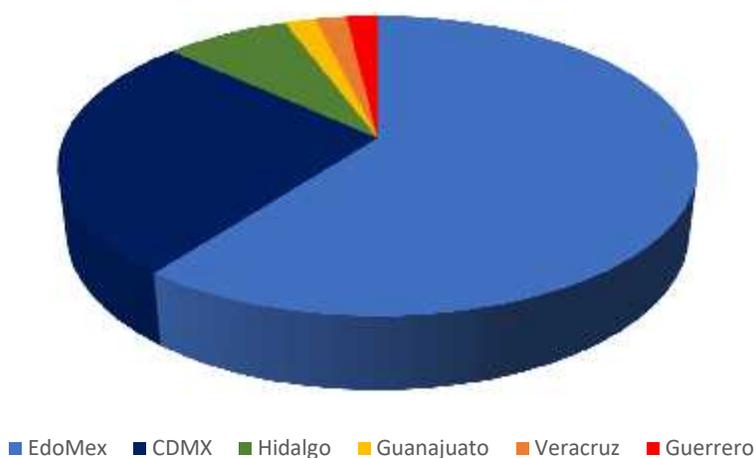
Gráfica 1: Sexo de los pacientes estudiados

Hospital de Procedencia



Gráfica 2: Hospital de procedencia de los pacientes estudiados

Lugar de Residencia

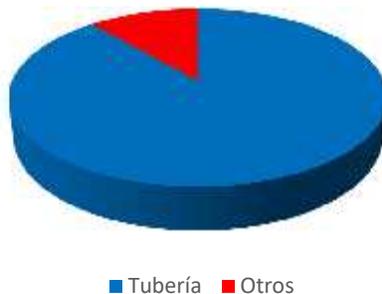


Gráfica 3: Estado de residencia de los pacientes estudiados

Con un IMC promedio de 20.81 (mínimo 14.06-máximo 41.52).

Las condiciones de la vivienda y entorno, 47 pacientes contaban con agua potable suministrada por tubería (88.67%), y solo 6 con otras fuentes (Ej pozo, pipa) (Ver Gráfica 4); 4 viviendo en condiciones de hacinamiento contra 49 sin esta condición (92.45%) (Ver Gráfica 5); 35 presentaron convivencia con perros y/o gatos (66%), de los 35 pacientes con convivencia positiva a perros y/o gatos (Ver Gráfica 6), 4 refirieron convivir además con otros animales siendo en 3 casos pollos y en 1 caso conejos; ningún paciente presentaba convivencia exclusiva con animales diferentes de perros y/o gatos. 23 pacientes refirieron consumo de alimentos de dudosa calidad higiénica/ consumo de alimentos preparados en vía pública (43.39%) (Ver Gráfica 7).

Fuente de Agua para Consumo



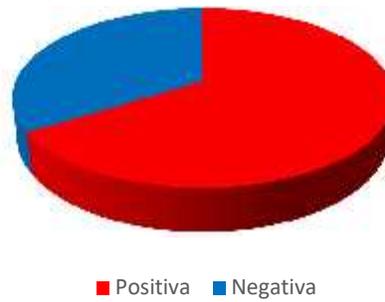
Gráfica 4: Fuente de agua para consumo de los pacientes estudiados

Hacinamiento



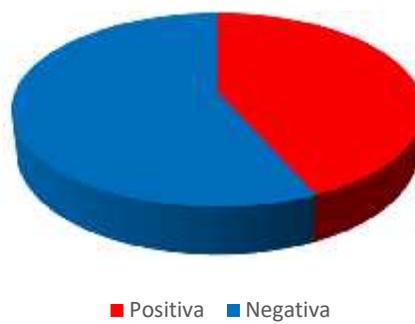
Gráfica 5: Vivienda en condiciones de hacinamiento de los pacientes estudiados

Convivencia con Perros y/o Gatos



Gráfica 6: Convivencia con perros y/o gatos de los pacientes estudiados

Alimentación NO Higiénica



Gráfica 7: Alimentación NO Higiénica/ consumo frecuente de alimentos preparados en la vía pública por los pacientes

Comorbilidad



Gráfico 8: Diagnósticos de comorbilidad en los pacientes.

Comorbilidades

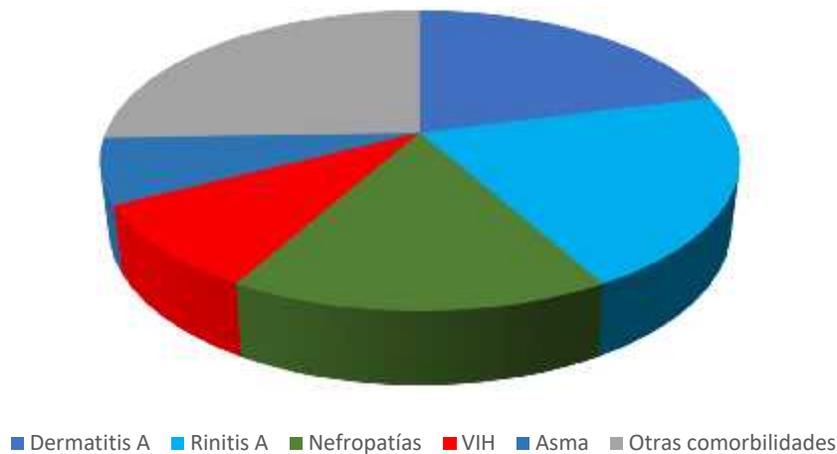
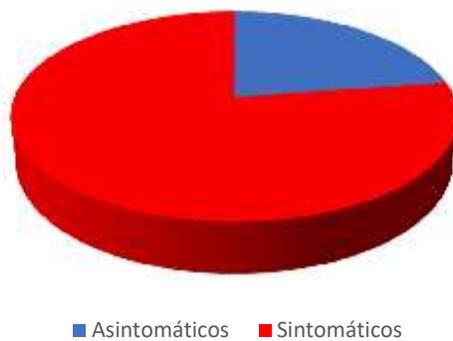


Gráfico 9: Diagnósticos de los pacientes con comorbilidades

En relación a las comorbilidades de los pacientes, 30 no presentaban, y 23 se referían con alguna condición (Ver Gráfica 8), de los cuales: 9 contaban con diagnóstico de dermatitis atópica, 9 con rinitis alérgica, 7 con nefropatías, 4 con infección por VIH, 3 con asma y 11 con otras comorbilidades en su mayoría con presencia únicamente en un paciente (Ej. Sx. Down, Sx Kabuki, Sx. Ehlers Danlos, Esclerosis Mesial Temporal) (Ver Gráfica 9).

En cuanto a sintomatología activa al momento de la toma de muestra de CPS, 42 presentaban alguna sintomatología (79.84%) y 12 se refirieron asintomáticos (22.64%)(Ver Gráfica 10), de los pacientes sintomáticos solo 5 referían afección sistémica (siendo en estos 5 casos fiebre, y en uno de ellos fiebre + mareo), 34 refirieron síntomas gastrointestinales (64.15% del total de pacientes y 80.95% respecto del grupo sintomático), y 13 con síntomas extraintestinales (24.52% del total de pacientes y 30.95% respecto del grupo sintomático).

Presencia de Síntomas



Gráfica 10: Presencia de síntomas en los pacientes.

Síntomas Gastrointestinales

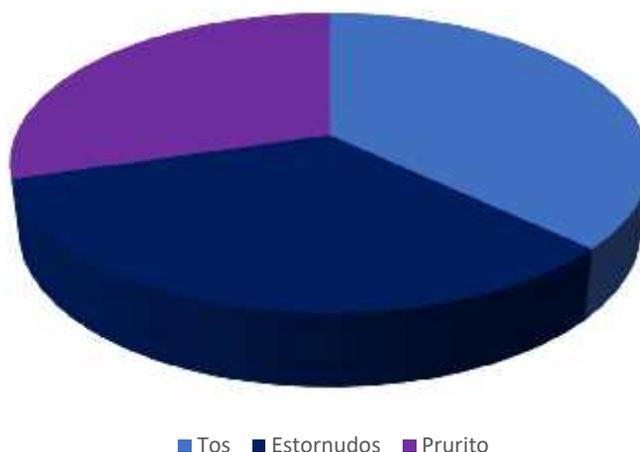


Gráfica 11: Distribución de síntomas en los pacientes con clínica gastrointestinal.

De los 34 pacientes con síntomas gastrointestinales, los síntomas más frecuentes fueron en primer lugar dolor abdominal con 25 pacientes (59.52% del total de pacientes sintomáticos, y 73.52% de los pacientes con síntomas GI), en segundo lugar diarrea con 23 pacientes (54.76% del total de pacientes sintomáticos, y 67.64% de los pacientes con síntomas GI), tercer lugar hiporexia con 19 pacientes (45.23% del total de pacientes sintomáticos, y 55.88% de los pacientes con síntomas GI), cuarto lugar náuseas con 12 pacientes (28.57% del total de pacientes sintomáticos, y 35.29% de los pacientes con síntomas GI), quinto lugar flatulencias con 8 pacientes, así como 19 pacientes con otros síntomas GI (Ver Gráfica 11) .

13 pacientes refirieron clínica extraintestinal siendo en primer lugar tos con 10 pacientes (23.80% del total de pacientes sintomáticos, y 76.92% de los pacientes con síntomas extraintestinales), segundo lugar estornudos en 9 pacientes (21.42% del total de pacientes sintomáticos, y 69.23% de los pacientes con síntomas extraintestinales), y en tercer lugar prurito en 8 pacientes (19.04% del total de pacientes sintomáticos, y 61.53% de los pacientes con síntomas extraintestinales). De este grupo de 13 pacientes, 7 refirieron únicamente clínica extraintestinal sin aparente presencia de clínica gastrointestinal (53.84% de los pacientes con síntomas extraintestinales) (Ver Gráfica 12).

Síntomas Extraintestinales



Gráfica 12: Distribución de síntomas en los pacientes con clínica extraintestinal.

En la identificación de parásitos presentes en las muestras por el método de Ferreira y/o Faust, en el total de ellas (55), se reportó la presencia de *Blastocystis sp.* (como ya se señaló, solo en 53 muestras se contó con la información clínica del paciente), 11 con la presencia de otros parásitos, de los cuales en 7 casos se reportó la presencia de *Endolimax nana*, 2 con *Chilomastix mesnili*, 1 con *Entamoeba coli* y 1 con *Entamoeba histolytica*. En este grupo 1 muestra no contaba con la información clínica del paciente, 9 presentaban alguna clínica (gastrointestinal o extraintestinal) y solo 1 de los pacientes se refirió asintomático, siendo la coinfección por *Entamoeba coli*.

En los resultados paraclínicos, los pacientes presentaron un valor promedio de hemoglobina de 14.64g/dL (mínimo 10 g/dL- máximo 18 g/dL); un valor promedio de hematocrito de 43.15% (mínimo 30%- máximo 54.4%), y un valor promedio de plaquetas de 214 mil/mm³ (mínimo 147mil/mm³- máximo 473mil/mm³).

Leucocitos con un valor medio de 7.08mil/mm³, encontrando al comparar por intervalo de referencia acorde a la edad, 48 pacientes con cuenta normal de leucocitos, 5 pacientes con leucopenia, y ningún paciente con leucocitosis. Neutrófilos totales encontrando al comparar por intervalo de referencia acorde a la edad, 2 pacientes con neutropenia (de los cuales en 1 caso se conocía con esta alteración como parte sus comorbilidades), y en 1 caso el paciente contaba con el diagnóstico de dermatitis atópica y rinitis alérgica, no se encontraron pacientes con neutrofilia. Linfocitos totales encontrando al comparar por intervalo de referencia acorde a la edad, 7 pacientes con linfopenia (5 pacientes aparentemente sin comorbilidades, 1 con infección por VIH y 1 con enfermedad renal crónica), no se encontraron pacientes con linfocitosis.

Eosinófilos totales encontrando al comparar por intervalo de referencia acorde a la edad, 17 pacientes con eosinofilia (32.07%), 12 pacientes aparentemente sin comorbilidades, 4 con dermatitis atópica, rinitis alérgica y/o asma, y 1 paciente con enfermedad renal crónica.

Solo en 17 casos se contó con la determinación de los valores de IgE sérica, en los cuales considerando como elevada un valor superior a 100 UI/mL, resultando en 9 con valores normales de IgE y 8 con valores elevados de IgE (47.05% de los pacientes que contaban con determinación de IgE) (4 de estos en pacientes con diagnóstico de dermatitis atópica, rinitis alérgica o asma (23,52 de los pacientes en los que se determinó IgE); y 4 en pacientes con otros diagnósticos de base o sin comorbilidad).

Al combinar los resultados de IgE con los valores de cuenta de eosinófilos se encontró que 5 presentaban IgE elevada sin eosinofilia, 2 con IgE elevada con eosinofilia, 3 con IgE normal con eosinofilia, y 6 con IgE normal sin eosinofilia.

En cuanto al tratamiento, solo en 32 casos se especificaba la prescripción de antiparasitarios para la infección por *Blastocystis sp.*, siendo 27 casos con Metronidazol por 10 días (84.37% del total de pacientes con tratamiento); y en 5 casos recibiendo tratamiento con Nitazoxanida por 3 días (15.62% del total de pacientes con tratamiento).

En el caso de los pacientes tratados con Metronidazol 4 de ellos, es decir el 14.8% de los pacientes con este fármaco, ameritaron un segundo ciclo para lograr negativizar los CPS de control.

De igual forma, en el caso de pacientes tratados con Nitazoxanida 3 de ellos, es decir el 60.0% de los pacientes tratados con este fármaco, ameritaron un segundo ciclo para lograr negativizar los CPS de control. (Ver Gráfica 13)



Gráfica 13: Total de pacientes en los que se especificaba la administración de tratamiento antiparasitario.

Por problemas de disponibilidad de los reactivos químicos, a pesar de que se comentó con diferentes distribuidores, no se logró contar con estos recursos en tiempo, por lo que en el presente trabajo alcanzamos únicamente la etapa de extracción de DNA de las 55 muestra estudios, quedando pendiente la realización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y la subsecuente secuenciación.

DISCUSIÓN:

El presente estudio cuenta con la información clínica de 53 pacientes, 30 hombres (56.6%), 20 mujeres (43.39%), encontrándose relativamente una muestra equilibrada en este sentido. Se trata de pacientes preponderantemente pediátricos, con edades comprendidas entre 2 años y 21 años, con una media de 10.45 años, similar a estudios previos sobre la infección por *Blastocystis sp* en niños.^{22, 45-49}

En términos de grupos pediátricos con ausencia de pacientes neonatos y lactantes; sin embargo, la mayoría de estudios sobre la infección por *Blastocystis sp* de igual forma no presentan abundante representación de estos grupos, probablemente porque las vías conocidas de transmisión de éste parásito se asocian a higiene deficiente (agua para consumo de pobre calidad sanitaria/ potabilidad cuestionable, consumo de alimentos en vía pública, contacto estrecho con animales domésticos no desparasitados, etc.), pero pese a la presencia frecuente de estas condiciones desfavorables en los estratos socioeconómicos bajos, las familias ponen especial cuidado en evitar exponer a los niños más pequeños a estas condiciones, adicionalmente la presencia de clínica específica es difícil de esclarecer en estos grupos dada la limitada capacidad de comunicación.

Los pacientes fueron captados durante su atención médica dentro de 2 hospitales de concentración de la Ciudad de México, 31 pacientes (58.49%) del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, y 22 pacientes (41.51%) del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”.

La amplia mayoría, 46 pacientes (86.78%), residentes de ciudad de México y su área metropolitana, en segundo lugar 4 pacientes (7.54%) del estado de Hidalgo.

Pese a lo que se señalará posteriormente en materia de comorbilidades, la media de IMC de los pacientes fue de 20.81, con una amplia mayoría de pacientes aparentemente eutróficos.

En cuanto a factores de la vivienda y entorno, 6 pacientes (11.32%) refirieron no contar con tubería de agua potable en su domicilio, 4 pacientes (7.54%) con vivienda en condiciones de hacinamiento, 35 pacientes (66.03%) convivencia con perros y/ gatos (dentro de los cuales además 3 con convivencia con pollos y 1 paciente convivencia con conejos), y 23 pacientes (43.39%) con consumo de alimentos de calidad higiénica dudosa/ consumo de alimentos en vía pública. Por lo que, de los factores de riesgo conocidos para la infección por *Blastocystis sp.*, el más frecuente dentro de nuestra población muestral resultó la convivencia con perros y/o gatos.^{13, 22, 23, 25, 49}

La presencia de comorbilidades se refirió en 23 pacientes, siendo las patologías de tipo alérgico las más frecuentes con 9 pacientes con dermatitis atópica, 9 con rinitis alérgica y 3 con asma, en segundo lugar 7 pacientes con nefropatías, tercer lugar 4 pacientes con infección por VIH, y 11 dentro de otras comorbilidades, debe señalarse que en muchos casos un paciente contaba con varias condiciones en forma simultánea, particularmente las patologías del ámbito alérgico.

La mayoría de pacientes dentro del estudio (42 pacientes/79.84%), refería la presencia de síntomas sistémicos, gastrointestinales y/o extraintestinales al momento de recabarse las muestras de heces y sangre para el presente estudio, desafortunadamente al tratarse de pacientes dentro de un entorno hospitalario donde en mayoría acuden por presentar algún síntoma, no podemos sugerir consistentemente que en la mayoría de los casos la infección por *Blastocystis sp.* conduzca al desarrollo de todos los síntomas descritos; sin embargo, sin nos permite estudiar, en rasgos generales, un espectro sintomático.^{30-38, 50, 51}

Únicamente 12 pacientes (22,64%) se refirieron asintomáticos, esta fracción de pacientes resulta de particular relevancia a la pendiente determinación de STs de *Blastocystis sp.*, permitiendo comparar los STs aislados en individuos con y sin

clínica, por el momento la relevancia de esta población se limita a evidenciar, como ya se ha descrito ampliamente en la literatura, que una fracción de individuos con infección por *Blastocystis sp.* no desarrolla síntomas.^{13, 18, 22, 23, 40, 46-49.}

Como era de esperarse, acorde a lo referido en estudios previos, el grupo de síntomas más comúnmente presente fue de tipo gastrointestinal con 34 pacientes (80.95% del grupo con síntomas), siendo el más común el dolor abdominal con 25 pacientes (73.52% de los pacientes con síntomas GI), en segundo lugar diarrea con 23 pacientes (67.64% de los pacientes con síntomas GI), tercer lugar hiporexia con 19 pacientes (55.88% de los pacientes con síntomas GI), cuarto lugar náuseas, quinto lugar flatulencias, así como 19 pacientes con otros síntomas GI.^{8, 16, 30-31, 36-38, 52}

La presencia de clínica extraintestinal se encontró en 13 pacientes, siendo en la práctica totalidad de casos (12 pacientes) con diagnóstico de base de dermatitis atópica, asma o rinitis, por lo que es difícil distinguir la relación causa-efecto entre la infección por *Blastocystis sp.* y el desarrollo de estos síntomas; sin embargo, la literatura previa describe que en ocasiones el tratamiento exitoso de la infección por *Blastocystis sp.* deriva en mejoría clínica de este grupo de patologías, sugiriendo un papel contribuyente del parásito a la alteración de las vías inmunológicas, con favorecimiento de un perfil de respuesta Th2, ampliamente descrito como escenario basal de patologías alérgicas.³²⁻³⁴

Respecto de la presencia de parásitos en las muestras de heces, los 53 pacientes fueron positivos para *Blastocystis sp.*, adicionalmente en 10 pacientes se reportó la presencia de otro parásito, siendo la coinfección con *Endolimax nana* la más frecuente con 7 casos, 1 caso con *Chilomastix mesnili*, 1 caso con *Entamoeba histolytica* y 1 con *Entamoeba coli*. En este grupo 9 de los pacientes presentaron alguna sintomatología, y solo el caso de la coinfección con *Entamoeba coli* se refirió asintomático, esto resulta congruente con lo hasta ahora conocido, donde la presencia de ambos parásitos puede presentarse en ausencia de clínica, de hecho, en el caso de *Entamoeba coli* identificado clásicamente como un parásito comensal.^{53, 54}

En cuanto a los resultados de la biometría hemática, como era de esperarse, las alteraciones a nivel de la hemoglobina y hematocrito fueron virtualmente ausentes, con un valor promedio de hemoglobina de 14.64g/dL (mínimo 10 g/dL- máximo 18 g/dL); y un valor promedio de hematocrito de 43.15% (mínimo 30%- máximo 54.4%), si bien cabría esperarse una presencia esporádica de pacientes con anemia en relación con la subpoblación con nefropatía; sin embargo, su ausencia o presencia únicamente con anemia leve, pone de manifiesto un aparente buen control por el servicio de Nefrología correspondiente, probablemente gracias al establecimiento de terapéutica a fin de evitar esta complicación.

De igual forma, no hubo aparente afección a nivel plaquetario con una cuenta media de 214 mil/mm³ (mínimo 147mil/mm³- máximo 473mil/mm³).

En cuestión de cuenta de leucocitos no se encontraron pacientes con leucocitosis, y únicamente 5 con leucopenia, de los cuales en 3 casos se trató de pacientes con comorbilidades, mismas que se conoce conllevan a esta alteración (VIH, Sx Down con alteraciones sanguíneas en estudio y Sturge Weber en el contexto del tratamiento de patología de base), destaca únicamente la presencia de 2 casos en pacientes, que si bien se referían con sintomatología en agudo, se conocen sin comorbilidad, en estos casos cabría esperar abordaje adicional a fin de descartar patología no diagnosticada, aunque es prudente señalar que en estos 2 casos se trató de cifras levemente por debajo de los valores de referencia, que también pudieran estar exentos de alguna otra justificación. Lo anterior, en su conjunto, es congruente con la literatura donde la infección por *Blastocystis sp.* no se refleja en una alteración a este nivel.

De los valores de neutrófilos, no hubo casos con neutrofilia, y solo 2 pacientes presentaron neutropenia, ambos con comorbilidad que justifican esta alteración, y que por tanto poco pueden atribuirse a la infección por *Blastocystis sp.*

Por cuenta de linfocitos, no se presentó ningún caso con linfocitosis, 7 pacientes presentaron linfopenia, de los cuales 2 se trataron de pacientes con comorbilidades, mismas que justifican además esta alteración (infección por VIH y ERC por tratamiento de patología de base), destacan 5 pacientes con linfopenia sin aparente patología de base, en quienes un abordaje adicional, particularmente en 2 de ellos donde se encontraban con leucopenia y linfopenia, alteraciones hasta ahora no descritas como parte de la fisiopatología de la infección por *Blastocystis sp.*

Ahora bien, en la cuenta de eosinófilos, 17 (32.07% del total de pacientes) presentaron eosinofilia, 12 pacientes aparentemente sin comorbilidades (40% de los pacientes sin comorbilidades), 4 con patología alérgica, y 1 paciente con enfermedad renal crónica. Este contexto sugiere la presencia de esta alteración en posible relación con la infección por *Blastocystis sp.*, particularmente en casos con sintomatología, ya que solo 1 paciente (8.3%) de los 12 con eosinofilia y sin comorbilidades se refirió como asintomático.^{55, 56}

Respecto de la determinación de IgE sérica, desafortunadamente solo en 17 de los 53 casos se contó con esta determinación, resultando en 8 con valores elevados (47.05%), 4 de estos en pacientes con diagnóstico de dermatitis atópica, rinitis alérgica o asma, que justificaría esta alteración en probable contexto de otras vías fisiopatológicas, aunque como se mencionó previamente, sin poderse descartar la contribución de la infección por *Blastocystis sp.*; solo en 4 pacientes con comorbilidades que no suelen asociarse con elevación de IgE o sin comorbilidades se observó la elevación de IgE, pero sin duda resulta en un número muy pequeño de sujetos para proponer una relación causal, es ampliamente deseable en futuros estudios contar con los valores de IgE sérica en todos los casos.

Solo en 32 casos se especificaba la prescripción de antiparasitarios para la infección por *Blastocystis sp.*, siendo 27 casos con Metronidazol por 10 días, en este grupo 4 (14.8%) ameritaron un segundo ciclo para lograr negativizar el estudio de CPS; y otro grupo de 5 pacientes que recibió tratamiento con Nitazoxanida por 3 días, en este grupo 3 (60%) ameritó un segundo ciclo para lograr negativizar los CPS, en ningún caso se efectuó tratamiento mixto con ciclos con diferentes agentes. Estos resultados resultan acordes con lo reportado en la literatura con una mayor eficacia en el tratamiento de esta parasitosis con Metronidazol sobre Nitazoxanida, sugiriendo además la resistencia parcial (ya que no fue necesario efectuar un cambio de agente, únicamente dar un segundo ciclo), al Metronidazol o Nitazoxanida, que potencialmente podría atribuirse a diferentes STs.^{28, 57}

CONCLUSIONES

El presente estudio observacional de la infección por *Blastocystis sp.* en población pediátrica, realizado en hospitales de concentración de CDMX, con una amplia mayoría de pacientes provenientes del área metropolitana, con y sin comorbilidades, contribuye a describir el comportamiento de esta parasitosis en nuestra comunidad, contando al momento con la información clínica y estudios paraclínicos de los sujetos del estudio, se han observado resultados concordantes con lo reportado en estudios similares realizados en otras poblaciones.

Destaca la convivencia con perros y/o gatos como el factor de riesgo más frecuente dentro de nuestra población muestral, así mismo en cuanto a la clínica presente, la mayoría de pacientes, con y sin comorbilidades, refirió síntomas gastrointestinales, siendo lo más comunes el dolor abdominal, diarrea, hiporexia y náusea; en lo referente a síntomas extraintestinales se presentaron tos, estornudos y prurito; sin embargo, la importante cantidad de pacientes con comorbilidades de tipo alérgico (asma, dermatitis atópica y rinitis), hacen difícil establecer una clara causalidad; no obstante, la presencia de algunos de estos síntomas en individuos por lo demás sanos, sugiere, como ya se ha descrito en la literatura, que la infección por *Blastocystis sp.* es capaz de provocar y/o exacerbar este tipo de síntomas, fisiopatológicamente propuesto como resultado de favorecer un perfil de respuesta Th2 en el hospedero.³²⁻³⁴

La presencia de coinfecciones por otro parásitos, presentó de igual forma resultados congruentes con descrito en estudios previos, donde la única coinfección asintomática se encontró en el caso de *Entamoeba coli*, la cual se conoce como comensal, y la presencia de *Blastocystis sp.*, que, como se ha expuesto ampliamente, se ha descrito tanto en individuos sintomáticos como asintomáticos, y cuyo esclarecimiento de potencial patógeno es precisamente una de las principales motivaciones del presente estudio.

Los resultados en cuanto a las alteraciones en biometría hemática, tal como ya es conocido, no presentaron alteraciones en cuanto a hemoglobina, hematocrito, plaquetas, leucocitos, neutrófilos, ni linfocitos, salvo los casos puntuales donde en su amplia mayoría se justifican en el contexto fisiopatológico de los pacientes con comorbilidades.

Acorde con lo ampliamente descrito en la literatura, es la eosinofilia la alteración que nuestro estudio sugiere en posible relación con la infección por *Blastocystis sp.*, en particular con los casos sintomáticos, ya que esta alteración se presentó en 17 pacientes, 12 de los cuales se conocen por lo demás sanos, y adicionalmente solo 1 de estos 12 pacientes se refirió como asintomático.

En cuanto a la relación con los niveles de IgE sérica, poco se puede concluir porque desafortunadamente se contó en pocos casos con esta determinación (17 de los 53 pacientes), y únicamente 8 pacientes resultaron con IgE elevada, de los cuales 4 en pacientes con comorbilidades de tipo alérgico.

Referente al tratamiento de esta parasitosis, en el 60.37% de los casos se especificó recibir algún esquema, ya sea con Metronidazol o Nitazoxanida, en algunos casos ameritando un segundo ciclo; también acorde con los estudios previos, encontramos un mayor porcentaje de fracaso con un primer ciclo en el caso de Nitazoxanida, sugiriendo la presencia de variantes de *Blastocystis sp.* con un perfil de susceptibilidad diferente.

La información hasta ahora disponible se complementará ampliamente con los resultados de secuenciación de STs de *Blastocystis sp.*, facilitando elucidar posibles relaciones de STs con factores como la convivencia con animales, el lugar de residencia del paciente, la presencia en sujetos asintomáticos, la relación con algunos cuadros clínicos específicos, relación con eosinofilia, y con el perfil de respuesta al tratamiento antiparasitario, entre otros.

El presente estudio contribuye a conocer el comportamiento clínico, paraclínico, filogenético y epidemiológico de la infección por *Blastocystis sp.* dentro de nuestra población pediátrica.

Y en general como parte del conjunto de estudios que busca esclarecer, el ampliamente sugerido, rol patógeno de *Blastocystis sp.*

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

| Actividad | May-Jun 2022 | Jul-Ago 2022 | Sep-Oct 2022 | Nov-Dic 2022 | Ene-Feb 2023 | Mar-Abr 2023 | May-Jun 2023 |
|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Estructuración del proyecto. | X | X | | | | | |
| Revisión de literatura. | | X | X | X | | | X |
| Antecedentes y marco teórico. | | X | X | X | X | | |
| Recopilación de casos (información clínica y muestras) | | | | | X | X | X |
| Elaboración de base de datos. | | | | | | X | X |
| Realización de pruebas en laboratorio (extracción de DNA, PCR y secuenciación) | | | | | | X | X |
| Análisis de datos. | | | | | | | X |
| Elaboración del informe final. | | | | | | | X |

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arisue N, Hashimoto T, Yoshikawa H, Nakamura G, Nakamura F, Yano T, Hasegawa, M. Phylogenetic position of *Blastocystis hominis* and of Stramenopiles inferred from multiple molecular sequence data. *J Eukariotic Microbiol* 2002;49(1):42-53
2. Silberman JD, et al. Human parasite finds taxonomic home. *Nature* 1996; 380: 398.
3. Duda A, Kosik-Bogacka D, Lamocho-Arendar C, Zyc N, Kolodziejczyk L, Lamocho A. The prevalence of *Blastocystis hominis* and other protozoan parasites in soldiers returning from peacekeeping missions. *Am J Trop Med Hyg* 2015;92(4):805-6.
4. EM, Hussein AM, Eida MM, Atwa MM. Pathophysiological variability of different genotypes of human *Blastocystis hominis* Egyptian isolates in experimental infected rats. *Parasitol Res* 2008;102:853-60
5. Alfellani MA, et al. Diversity and distribution of *Blastocystis sp.* subtypes in non-human primates. *Parasitology* 2013; 140: 966–71.
6. Clark CG. Extensive genetic diversity in *Blastocystis hominis*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1997; 87: 79–83
7. Romero-Z JL, Romero Ibarra JL, Sanchez Vega JT. Blastocistosis. En: *Microbiología y Parasitología Médicas de Tay*. 5ta Ed. Méndez Editores. CDMX. MX 2019.
8. Barahona R, Maguiña V, Náquira V, Terashima I, Tello R. Blastocystosis humana: estudio prospectivo, sintomatología y factores epidemiológicos asociados. *Rev gastroenterol Peru*. 2003; 23: 29-35.
9. Cárdenas M, Martínez R. Protozoarios parásitos de importancia en salud pública transportados por *Musca domestica* Linnaeusen Lima, Perú. *Rev peru biol*. 2004; 11:149-153.
10. Quiceno J, Bastidas X, Rojas D, Barayona M. La mosca doméstica como portador de patógenos microbianos, en cinco cafeterías del norte de Bogotá. *Rev UDCA Act & Div Cient*. 2010; 13: 23-29.
11. Stensvold CR, et al. Blastocystis: unravelling potential risk factors and clinical significance of a common but neglected parasite. *Epidemiology and Infection* 2009; 137: 1655–1663.
12. Wawrzyniak I, et al. Characterization of two cysteine proteases secreted by *Blastocystis* ST7, a human intestinal parasite. *Parasitology International* 2012; 61: 437–442
13. Li L-H, et al. Cross-sectional surveys and subtype classification of human *Blastocystis* isolates from four epidemiological settings in China. *Parasitology Research* 2007; 102: 83–90.
14. Scicluna SM, Tawari B, Clark CG. DNA barcoding of *Blastocystis*. *Protist* 2006; 157: 77–85.
15. Reeder TW. A phylogeny of the Australian Sphenomorphus group (Scincidae: Squamata) and the phylogenetic placement of the crocodile skins (*Tribolonotus*): Bayesian approaches to assessing congruence and obtaining confidence in maximum likelihood inferred relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2003; 2: 384–397.
- 16 Stensvold CR, et al. *Blastocystis sp.* subtype 4 is common in Danish *Blastocystis* positive patients presenting with acute diarrhea. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2011; 84: 883–885

17. Wawrzyniak I, et al. Characterization of two cysteine proteases secreted by Blastocystis ST7, a human intestinal parasite. *Parasitology International* 2012; 61: 437–442.
18. Leder K, et al. No correlation between clinical symptoms and Blastocystis hominis in immunocompetent individuals. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2005; 20: 1390–1394.
19. Bohm-Glönning B, Knobloch J, Walderich B. Five subgroups of Blastocystis hominis isolated from symptomatic and asymptomatic patients revealed by restriction site analysis of PCR-amplified 16S-like rDNA. *Tropical Medicine and International Health* 1997; 2: 771–778.
20. Salehi R, Haghighi A, Stensvald CR, Kheirandish F, Azargashb E, Raeghi S, Kohansal C, Bahrami F. Prevalence and subtype identification of Blastocystis hominis isolated from humans in Ahvaz Southwestern Iran. *Gastroenterol Hepatology from Bed to Bench*. 2017; 10(3): 235-241.
21. Rasti S, Hassanzadeh M, Hooshyar H, Momen-Herani M, Mousani SGA, Abdoli A. Intestinal parasitic infections in different groups of immunocompromised patients in Kashan and Qom cities, central Iran. *Scand J Gastroenterol* 2017;52(6-7):738-40.
22. Sungkar S, Pohan A, Ramadanu A, Albar N, Azizah F, Antonius RA, Nugraha, Wiria AE. Heavy burden of intestinal parasite infections in Kalena Rongo village, a rural area in southwest Sumba, eastern part of Indonesia: a cross sectional study. *BMC Publ Health* 2015;15(12):1296.
23. Guignard S, Arienti H, Freyre L, Lujan H, Rubinstein H. Prevalence of enteroparasites in a residence for children in Cordoba province, Argentina. *Europ J Epidemiol* 2000;16(3):287-93
- 24 Santin M, Gómez-Muñoz MT, Solano-Aguilar G, Fayer R. Development of a new PCR protocol to detect and subtype Blastocystis spp. From humans and animals. *Parasitol Res* 2011;109:205
- 25 Clark CG, Diamond LS. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin Microbiol Rev* 2002;15(3):329.
- 26 Zhang X, Qiao J, Wu X, Da R, Zhao L, Wu Z. In vitro culture of Blastocystis hominis in three liquid media and its usefulness in the diagnosis of blastocystosis. *International J Infect Dis* 2012;16(1):e23-e28.
27. Gamra MMA, Elwakil HS, El Deeb HK, Khalifa KE, Elhafiz HE. The potential use of 29 KDa protein as a marker of pathogenicity and diagnosis of symptomatic infections with Blastocystis hominis. *Parasitol Res* 2011;108:1139-46
28. Roberts T, Ellis J, Harkness J, Marriot D, Stark D. Treatment failure in patients with chronic Blastocystis hominis infection. *J Med Microbiology* 2014;63:252-7
29. Brandolino O, Maggi P, Panaro MA, Lisi S, Andriola A, Acquafredda A, Angano C. Intestinal protozoa in HIV-infected patients in Apulia, south Italy. *Epidemiol Infection* 1999;123(3):457-62
- 30 Azizian M, Basati G, Abangah G, Mahmoudi MR, Mirzaei A. Contribution of Blastocystis hominis subtypes and associated inflammatory factors in development of irritable bowel syndrome. *Parasitol Res* 2016;115:2003-9.
- 31 Eltayeb LB, Brair LS, Aljafari AS. The impact of intestinal protozoan parasites among irritable bowel syndrome patients in Khartom state. *Al Neel Med J* 2013;3:47-57
- 32 Yilmaz EA, Karaatmaca B, Sackesen C, Sahiner UM, Cavkaytar O, Sekerel BE, et al. Parasitic infections in children with chronic spontaneous urticaria. *Allergy and Immunology* 2016;171:130-5.
- 33 Pasqui A, Savini E, Saletti M, Guzzo C, Paccetti L, Auteri A. Chronic urticaria and Blastocystis hominis infection. A case report. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2004;8:117-20.

- 34 Kolkhir P, Balakirski G, Merk HF, Olisova O, Maurer M. Chronic spontaneous urticarial and internal parasites- a systematic review. *Allergy* 2016;71:308-22.
- 35 Nassir E, Awad J, Abel AB, Khoury J, Shay M, Lejbkovicz F. Blastocystis hominis as a cause of hypoalbuminemia and anasarca. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23:399-402
36. Poirier P, et al. New insights into Blastocystis spp.: a potential link with irritable bowel syndrome. *PLoS Pathogens* 2012; 8: e1002545.
37. Boorom KF, et al. Oh my aching gut: irritable bowel syndrome, Blastocystis, and asymptomatic infection. *Parasites & Vectors* 2008; 1: 40,
38. Dogruman-Al F, et al. Blastocystis subtype in irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease in Ankara, Turkey. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2009; 104: 724–727
39. Tan S. New Insights on classification, identification, and clinical relevance of Blastocystis spp. *Clin Microbiol Rev.* 2008; 21: 639-665.
40. Romero-Zamora JL., et al. *Blastocystis sp.*: ¿Comensal o patógeno?. *Rev Enferm Infecc Pediatr* 2018; 30 (123):1243-8.
41. Whipps M. Christopher, Boorom KF. Molecular characterization of Blastocystis species in Oregon identifies multiple subtypes. *Parasitol Res* (2010) 106, 827-832.
42. Deeb HK, Khodeer S. Blastocystis spp.: frequency and subtype distribution in iron deficiency anemic versus non-anemic subjects from Egypt. *J Parasitol* 2013;99(4):599-602.
43. Dina M. Abdel Hameed & Omayma M. Hassanin & Nehal Mohamed Zuel-Fakkar. Association of Blastocystis hominis genetic subtypes with urticaria. *Parasitol Res* (2011) 108:553–560.
44. Rojas-Velazquez Et al. Use of next-generation amplicon sequencing to study Blastocystis genetic diversity in a rural population from Mexico. *Parasites vectors* (2019)12:566.
45. Zainab Naseef Jassim, Mohammed J Shakir, Molecular study of Blastocystis hominis isolated from different regions of Diyala Governorate, *Wiad Lek.* 2022;75(12):2901-2906.
46. Nithyamathi K, Chandramathi S, Kumar S. Predominance of Blastocystis sp. infection among school children in Peninsular Malaysia. *PLoS One* 2016;11: e0136709.
47. Dogan N, Aydin M, Tuzemen NU, et al. Subtype distribution of Blastocystis spp. isolated from children in Eskisehir, Turkey. *Parasitol Int* 2017;66:948–51
48. Sari Ika P., Benung Martwinny R., Diagnosis and Identification of Blastocystis Subtypes in Primary School Children in Jakarta, *Journal of Tropical Pediatrics*, 2017, 0, 1–7.
49. Popruk S, Udonsom R, Koompaong K, et al. Subtype distribution of Blastocystis in Thai-Myanmar border, Thailand. *Korean J Parasitol* 2015;53:13–9
50. Bart A, Wentink-Bonnema EM, Gilis H, et al. Diagnosis and subtype analysis of Blastocystis sp. in 442 patients in a hospital setting in the Netherlands. *BMC Infect Dis.* 2013;13:389.
51. Brown KH. Diarrhea and malnutrition. *J. Nutr.* 2003;133:328S–32S.
52. Lucia Fontanelli Sulekova Lucia, Gabrielli Simona, Furzi Federica, Molecular characterization of Blastocystis subtypes in HIV-positive patients and evaluation of risk factors for colonization. *BMC Infectious Diseases* (2019) 19:876.
53. Haidar Akhlema, De Jesus Orlando, Entamoeba coli Infection, *Treasure Island (FL): StatPearls* Jan. 2023.

54. Aucott JN, Ravdin JI, Amebiasis and "nonpathogenic" intestinal protozoa, *Infect Dis Clin North Am*. 1993 Sep;7(3):467-85.
55. Sheehan J Daniel, Raucher G., McKittrick John C., Association of *Blastocystis hominis* with Signs and Symptoms of Human Disease. *Journal of Clinical Microbiology*, Oct.1986, p. 548-550.
56. Bálint Anita, Dóczy Ilona, Bereczki Laszlo, Gyulai Rolland. Do not forget the stool examination!-cutaneous and gastrointestinal manifestations of *Blastocystis* sp. infection. *Parasitol Res*. 2014 Apr;113(4):1585-90.
57. Batista Lissette, Pérez Jove Josefa, Rosinach Merce. Low efficacy of metronidazole in the eradication of *Blastocystis hominis* in symptomatic patients: Case series and systematic literature review. *Gastroenterol Hepatol*. 2017 Jun-Jul;40(6):381-387.
58. Romero-Zamora JL. Giardiasis, entamoebiasis, blastocistosis e infección intestinal por coccidias. En: *Diarrea aguda. Temas de pediatría*. Editorial McGraw-Hill. Interamericana. México, 2004. pp. 161-196.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Un estudio retrolectivo impide, en caso de presentar ausencia parcial de información de interés, el poder efectuar un reinterrogatorio a fin de subsanar esta deficiencia.

Las muestras analizadas provienen de pacientes provenientes de hospitales en CDMX, que si bien al tratarse de hospitales de concentración, potencialmente provienen de distintas regiones de nuestro país, siempre se presentará un potencial sesgo en favor de las localizaciones geográficas más próximas.

La inclusión de personas sanas como controles en el presente estudio, resultó de la identificación de *Blastocystis sp.* en muestras de heces, obtenidas como resultado de otra intencionalidad, como ejemplo la de evaluar las condiciones de potencial donador, y no de forma específica para el presente estudio, por lo que no reflejan una distribución similar de factores que potencialmente pueden tener impacto en la interpretación de los resultados.

Una muestra de decenas de pacientes, en el contexto de una de las parasitosis más frecuentes de nuestra población resulta en limitaciones de representatividad, que deben juzgarse evitando en sentido extenso la extrapolación de los resultados a poblaciones poco relacionadas.

El presente estudio sugiere la presencia de comorbilidades como potencial consecuencia de la infección por *Blastocystis sp.*; sin embargo, como es bien sabido la condición dinámica de salud-enfermedad es un continuo difícil de determinar en los individuos, por lo que no se deben descartar otras condiciones concomitantes como causa de los procesos mórbidos identificados en los pacientes con la infección por *Blastocystis sp.*

Estudios adicionales, en particular, clínicos experimentales y a nivel de laboratorio son necesarios para terminar de esclarecer el papel patógeno de *Blastocystis sp.*, lo cual a su vez se limita, entre otros, por los recursos económicos disponibles, ya que muchas de estas técnicas son poco asequibles.