

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

PREVALENCIA Y PATOGENICIDAD DE
Blastocystis hominis EN UN GRUPO
DE PACIENTES DEL HOSPITAL NACIONAL
PEDRO DE BETHANCOURT, ANTIGUA GUATEMALA



Informe de Tesis

presentado por

JOSE GUILLELMO CARRILLO PAREDES

Para optar al titulo de

QUIMICO BIOLOGO

Guatemala, junio de 1,994

REPOSICION DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

DL
06
T(1635)

JUNTA DIRECTIVA

DECANO: Lic. Clemencia del Pilar Gálvez de Avila

SECRETARIO: Lic. José Francisco Monterroso Salinas

VOCAL PRIMERO: Lic. Miguel Angel Herrera Gálvez

VOCAL SEGUNDO: Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán

VOCAL TERCERO: Lic. Miguel Orlando Garza Sagastume

VOCAL CUARTO: Br. Jorge Luis Galindo Arévalo

VOCAL QUINTO: Br. Edgar Antonio Garcia del Pozo

DEDICO ESTA TESIS

A DIOS

A MIS PADRES

Delia Inés Paredes de Carrillo.

Marco Tulio Carrillo Mansilla.

A MIS ABUELITOS

Concepción del Rosario González Estrada (Q.E.P.D).

Enma Flora Mansilla de Carrillo.

José Guillermo Carrillo Laguardia.

A MIS HERMANAS

Dina, Aracely, Virginia y Violeta.

DEDICO ESTE ACTO

A Guatemala

A La Universidad de San Carlos de Guatemala

A La Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

A La Escuela de Química Biológica

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores:

Lic. Miguel Francisco Torres Rubín.

Lic. Juan Carlos Quevedo Velásquez.

Al personal del laboratorio clínico del Hospital Nacional Pedro de Bethancourt de Antigua Guatemala que colaboró en la realización de la tesis.

A las personas que hicieron posible la realización de la tesis.

I N D I C E

Contenido	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	3
3. ANTECEDENTES	4
3.1 Generalidades:	4
3.1.1 Clasificación taxonómica de <i>Blastocystis hominis</i>	4
3.1.2 Morfología y ciclo vital de <i>Blastocystis hominis</i>	8
3.1.3 Epidemiología de la blastocystosis	10
3.1.4 Patogenicidad de <i>Blastocystis hominis</i>	11
3.1.5 Blastocystosis en Guatemala	13
3.2 Diagnóstico de laboratorio:	14
3.2.1 Muestra	14
3.2.2 Métodos de diagnóstico	15
3.2.2.1 Observación en fresco	15
3.2.2.2 Método de concentración salina	16
3.2.2.3 Método de concentración de Ritchie	16
3.2.2.4 Cultivos	16
3.2.2.5 Otros	17
3.3 Tratamiento	17
3.4 Profilaxis	18
4. JUSTIFICACIONES	19
5. OBJETIVOS	20
6. HIPOTESIS	21
7. MATERIALES Y METODOS	22
8. RESULTADOS	30
9. DISCUSION	32
10. CONCLUSIONES	36
11. RECOMENDACIONES	38
12. REFERENCIAS	39
13. ANEXOS	48

1. RESUMEN

Las enfermedades diarreicas son de enorme importancia epidemiológica en Guatemala. Las etiologías son muy diversas; los parásitos intestinales, incluyendo *Blastocystis hominis* son frecuentes. *Blastocystis hominis* es un protozoo clasificado definitivamente en el orden Amoebida y nuevo suborden Blastocystina, se le ha implicado como agente etiológico de diarrea (1,26,43), y es frecuentemente encontrado en las muestras de heces, por lo que en la actualidad es necesario determinar su prevalencia y asociación con enfermedad.

Se analizaron 400 muestras fecales correspondientes a igual número de pacientes, 200 niños y 200 adultos. Las muestras fueron analizadas para buscar parásitos intestinales por los métodos de observación en fresco, concentración salina y concentración de Ritchie. También fueron cultivadas para aislar agentes bacterianos enteropatógenos, y a cada paciente se le tomó una muestra de sangre para diagnosticar eosinofilia.

Para *Blastocystis hominis* se encontró una tasa de prevalencia total de 25.50 por ciento. Su asociación con enfermedad fue de una razón de probabilidad de 1.68 veces para los niños y de 8.08 veces para los adultos con 95 por ciento de intervalo de confianza, el riesgo atribuible para los niños fue de 0.22 y para los adultos de 0.48.

Los métodos más adecuados para el diagnóstico de *Blastocystis hominis* fueron los métodos de concentración salina y concentración de Ritchie con una diagonal de concordancia de

89 por ciento. De las 103 muestras positivas, 57 (55.34%) presentaron *Blastocystis hominis* como parásito único, de las cuales 21 (26.31%) fueron de niños sin diarrea y 13 (14.04%) fueron de adultos sin diarrea, encontrándose asociado a otros parásitos intestinales 46 (44.66%) y en un sólo caso asociado a *Shigella flexneri* (0.25%).

La sintomatología más frecuentemente asociada a *Blastocystis hominis* como parásito único fue diarrea, dolor abdominal, anorexia, cefalea, flatulencia, adinamia y la eosinofilia leve fue observada en 7.77 por ciento. Los parásitos más frecuentemente asociados a *Blastocystis hominis* fueron *Ascaris lumbricoides*, *Entamoeba coli* y *Trichuris trichiura*.

La forma de *Blastocystis hominis* más observada fue la vacuolada; actualmente este protozoo debe identificarse correctamente, reportarlo y dar el tratamiento adecuado cuando lo amerite.

2. INTRODUCCION

Guatemala es un país en vías de desarrollo, con regiones tropicales y sub-tropicales. Por este motivo, las diarreas infecciosas, frecuentemente causadas por protozoos presentan alta morbi-mortalidad. La literatura contemporánea, indica que *Blastocystis hominis* es un protozoo patógeno con prevalencia del 10 al 50 por ciento, según la región estudiada. Los estudios parasitológicos que se han efectuado en la población guatemalteca respecto a *Blastocystis hominis*, son únicamente dos; en nuestro país se encontró una prevalencia de 26.4 por ciento la cual se considera alta. Por falta de investigaciones apropiadas, la importancia clínica de este parásito, así como el conocimiento de su morfología celular para diagnóstico en el laboratorio, se han descuidado.

Los resultados del presente estudio contribuirán a determinar la prevalencia actual de *Blastocystis hominis* en una parte de la población de Guatemala. También se pretende estudiar su posible asociación con enfermedad, así como la elección de la mejor metodología de laboratorio para efectuar el diagnóstico de enfermedades diarréicas causadas por protozoos, en especial por *Blastocystis hominis*.

3. ANTECEDENTES

3.1 Generalidades:

3.1.1 Clasificación taxonómica de *Blastocystis hominis*:

Blastocystis hominis es un protozoo encontrado frecuentemente en el tracto intestinal humano. Probablemente fue descrito por primera vez en 1849 por Loesh; en 1899 Perrocinto realizó descripciones más adecuadas del microorganismo pero los manuscritos de estos autores no lo confirman (1). A principios del siglo XX, este protozoo fue estudiado ampliamente, y fue clasificado en 1904 por Prowasek como un parásito flagelado (2). En 1911, Alexeieff efectuó las primeras y acertadas descripciones del microorganismo considerándolo un quiste de *Trichomonas intestinalis*, y lo nombró *Blastocystis* (3).

En 1912, Brumpt fue el primero en nombrarlo *Blastocystis hominis*, y lo clasificó como un hongo; también determinó cuatro especies: *Blastocystis hominis* en el hombre, *Blastocystis bufonis* en el sapo *Bufo vulgaris*, *Blastocystis cercopithecii* en varios monos y *Blastocystis sanguisugae* en el mono *Haemopis sanguisuga* (4). Alexeieff en 1917 lo nombró *Blastocystis enterocola* y publicó su ciclo vital que era parecido a un grupo de hongos del género *Blastomyces* (5).

En 1922, Lynch clasificó a *Blastocystis* como un hongo y determinó tres especies en el hombre: *Blastocystis hominis*, *Blastocystis gemmagina* y *Blastocystis sporogina* (6). En ese mismo año, Aragao publicó críticas sobre la clasificación, y dividió a los autores en cuatro grupos:

1. Los que lo clasificaban como quistes de flagelados.
2. Los que lo clasificaban como un hongo.
3. Los que lo clasificaban como un enquistamiento o degeneración de amebas.
4. Los que no emitían juicio sobre su clasificación.

El concluyó en sus estudios que *Blastocystis hominis* era un ser absolutamente autónomo del género *Saccharomyces*, con un ciclo de vida especial que se llevaba a cabo en dos procesos: plasmatomia y esporogonia y que no era evidente su patogenicidad hacia el hombre (7). También en 1922, Bach y Keifer realizaron un intenso estudio y concluyeron que la naturaleza de *Blastocystis* era un enigma (8). Knobles y Das Gupta en 1924, tomaron como base los estudios de Lynch y Aragao y concluyeron que *Blastocystis hominis* era una levadura cercana al género *Schizosaccharomyces*, que probablemente tenía varias especies y que no se le evidenciaba patogenicidad, su ciclo vital era en tres formas: a) fisión binaria o múltiple por plasmatomia, b) multiplicación por gemación exógena y c) multiplicación por esporas endógenas (9).

En 1936, Ivanic afirmó que *Blastocystis* tenía estructura y división similar a los protozoos, realizó también observaciones en la ampolla rectal de la rana y creó una nueva especie *Blastocystis ranarum* (10), en ese mismo año Shilling y Santoni informaron que *Blastocystis* era un contaminante de los cultivos para protozoos y lo consideraron como una forma de vida intermediaria entre hongos y protozoos (11). Redaelli y Ciferri en 1939, clasificaron a *Blastocystis hominis* como una alga

aclórica cercana a la familia *Protothecaceae* (12).

Buscando clasificar adecuadamente este microorganismo, se realizaron muchos estudios presentando los autores conclusiones inciertas. A partir de 1967, Zierdt y colaboradores realizaron estudios muy relevantes clasificando definitivamente a *Blastocystis hominis* como un protozoo en base a las siguientes características:

a) Estructurales y ultraestructurales: ausencia de una pared celular, una membrana limitante con micropinocitos y poros, presencia de núcleos y nucléolos, membrana nuclear y citoplasmática bien definidas, mitocondrias (cientos en una célula) de un tipo generalmente de protozoos, presencia de aparato de Golgi, ribosomas, un retículo endoplásmico bien demarcado liso y rugoso (anexo 1), presenta pseudópodos de alimentación y locomoción, formas de multiplicación: fisión binaria, esquizogonia y endodiogonia, no produce brotes y mantiene una endosimbiosis bacteriana estable (mutualismo obligado).

b) Fisiológicas: no crece en la superficie de un medio sólido, crecimiento óptimo a 37 °C, no crece a 30 °C o a una temperatura inferior, anaerobio estricto, crecimiento óptimo a pH neutro o levemente alcalino, no crece a pH de 5.5, requiere de bacterias para crecer, crecimiento axénico (cultivo puro) se logra lentamente bajo condiciones cuidadosamente controladas, capaz de ingerir bacterias, es rápidamente destruido en medios no isotónicos, no crece en medios de cultivo para bacterias y hongos, requerimientos nutricionales similares a otros protozoos

intestinales, resiste a 400 µg/ml de anfotericina-B y los cultivos mueren en tres días a temperatura ambiente o en una noche a 4 °C (1,13-19). Zierdt y Tan en 1976, recomendaron clasificar a *Blastocystis hominis* dentro del subphylum Sporozoa, proponiendo la nueva clase Blastocystea y el nuevo suborden Blastocystida (19,20). En los primeros años de la década de los 80 la literatura refiere clasificarlo dentro de la subclase Coccidia (21-24). Estudios ultraestructurales recientes realizados por Yoshikawa y colaboradores indican su afinidad y similitud a *Entamoeba histolytica* (25).

A partir de 1988, Zierdt y colaboradores finalmente han definido la clasificación taxonómica de *Blastocystis hominis* en base a los esquemas de clasificación de Levine y colaboradores, la cual es aceptada actualmente (1,26,27):

Reino.....Protista
 Subreino.....Protozoa
 Phylum.....Sarcomastigophora
 Subphylum.....Sarcodina
 Superclase.....Rhizopoda
 Clase.....Lobosea
 Subclase.....Gymnamoeba
 Orden.....Amoebida
 Nuevo Suborden.....Blastocystina
 Género.....*Blastocystis*
 Especie.....*hominis*

3.1.2 Morfología y ciclo vital de *Blastocystis hominis*:

Blastocystis hominis presenta tres estados morfológicos bien diferenciados:

Forma vacuolada: se encuentran frecuentemente en las muestras de heces frescas, mide de 5 a 30 μm de diámetro con un promedio de 8 a 10 μm , generalmente tiene un núcleo pero puede presentar múltiples, el núcleo y el citoplasma se encuentran comprimidos en la periferia por una amplia vacuola central, el contenido de ésta vacuola no se colorea con tinciones especiales para lípidos, almidones, celulosa y glucógeno; se reproduce rápidamente por fisión binaria. Las células contienen gránulos lipoides y pueden presentar una fina cápsula alrededor de las mismas. La forma vacuolada se observa comúnmente en cultivos que no contienen suero humano, puede presentar diversas formas cuando digiere bacterias (anexos 2 y 3). Este estadio sufre cambios estructurales al entrar en contacto con el aire: colapso de membranas, radiación de filamentos de la membrana externa y filamentos adheridos a la superficie de la célula (anexo 4).

Forma ameboide: se encuentra con menor frecuencia en muestras de heces frescas, mide aproximadamente de 10 a 15 μm , puede presentar uno o dos núcleos centrales. Cuando el núcleo es visible presenta aglutinaciones de cromatina en la periferia, las células son polimorfas con rangos de tamaño predominantemente grandes; manifiesta pseudópodos y actividad fagocítica, se reproduce por endodiogenia, algunas formas ameboides se pueden reproducir de uno o varios puntos de la membrana citoplasmática, su movimiento es muy lento. Esta forma

se encuentra en cultivos viejos con antibióticos (anexo 2).

Forma granular: célula esférica rara en muestras de heces frescas, mide de 10 a 60 μm de diámetro con un predominio de 15 a 25 μm , se presenta como forma única, contiene tres tipos de gránulos: gránulos metabólicos, gránulos reproductivos y gránulos de lípidos, se reproduce por esquizogonia, probablemente es la forma quística de *Blastocystis hominis* y se observa en cultivos viejos que contienen 20 por ciento de suero humano (anexo 2) (13-15).

Ciclo vital:

Los estudios sobre el ciclo vital de *Blastocystis hominis* no evidencian que éste se lleve a cabo en el ser humano (1); sin embargo, sí se ha revelado que ésta ameba presenta fisión binaria en el intestino humano (19). El ciclo vital solamente ha sido demostrado en cultivos y se presenta en tres procesos:

1. La forma vacuolada presenta fisión binaria dando lugar a la formación de dos células hijas de forma vacuolada.
2. De la forma vacuolada se dá un paso de evolución a la forma ameboide, ésta se reproduce por endodiogonia dando lugar a la formación de una célula hija que pasa a la forma vacuolada.
3. De la forma vacuolada se dá un paso de evolución a la forma granular que presenta reproducción por esquizogonia dando lugar a la formación de varias células hijas que pasan a la forma vacuolada (anexo 5) (1,14).

3.1.3 Epidemiología de la blastocystosis:

No se conoce con certeza al hospedero intermediario o alterno de *Blastocystis hominis*, si es que lo hay, así como el mecanismo exacto de transmisión al hombre (1). Algunos reportes indican que se ha encontrado en algunos mamíferos, reptiles, anfibios y aún insectos, pero recientemente se han informado casos en humanos, monos y cerdos (28). Con respecto a la forma de transmisión se ha propuesto que es por el mecanismo feco-oral y que otros mecanismos son de difícil explicación debido a la fragilidad del protozoo o a la ausencia de una forma quística resistente al medio ambiente (28,29). Otros autores han propuesto que la blastocystosis es una zoonosis, que es transmitida por los alimentos o el agua; se ha encontrado en aguas sin tratamiento (30-32).

La prevalencia de *Blastocystis hominis* ha sido reportada en diferentes rangos de porcentajes: en Panamá se encontró 13.0 por ciento (33), en Cuba una elevada frecuencia (34), en Venezuela informaron que 10.25 por ciento (35), en Brasil 22.5 por ciento (36), en Chile se reportó 53.7 por ciento en niños (37), se han realizado estudios en los viajeros de Estados Unidos de América, que tienen alto riesgo de adquirir infecciones por protozoos, prediciendo una alta tasa de prevalencia, hasta 52.0 por ciento (31,38). Miller y Minshew exponen trabajos realizados por otros autores, donde se han alcanzado altas prevalencias, 35.5 por ciento en veteranos de la primera guerra mundial, 32.8 por ciento en reservistas militares de Estados Unidos de América, viajeros de los cuerpos de paz en Tailandia 17.0 por ciento;

52.0 por ciento en homosexuales y 16.0 por ciento en heterosexuales en el estado de Florida, Estados Unidos de América (28).

Qadri y colaboradores también exponen algunas tasas de prevalencia, en Arabia Saudita 17.5 por ciento, 12.2 por ciento en el sur de California y 16.0 por ciento en Nueva York, Estados Unidos de América; 10.0 por ciento en Nepal y 14.1 por ciento en Yugoslavia (39). Con respecto a la edad se han encontrado en todas las edades, pero los estudios revelan mayor frecuencia en los adultos, con un promedio en edad de 25 a 37 años (28,31,35,40). Se ha determinado que es cosmopolita, pero se ha encontrado más frecuentemente en los países en vías de desarrollo y en regiones tropicales y sub-tropicales (41).

3.1.4 Patogenicidad de *Blastocystis hominis*:

La asociación de *Blastocystis hominis* con enfermedad humana ha sido controversial desde que se discutía su clasificación taxonómica (42), luego de ser aceptado como un protozoo, fue considerado como un agente patógeno potencial, causante de diarrea en humanos por mecanismos desconocidos (43). Se ha reportado que su habitat en el tracto intestinal humano es el ciego y el colon (29), provocando una inflamación inespecífica de la mucosa intestinal, no invade o se adhiere al epitelio, aunque estudios en cerdos han demostrado invasión.

Sin embargo, es importante recalcar que la interacción entre el sistema inmune y el microambiente del intestino del hospedero es imprescindible para que se produzca la infección

(44-46). Los síntomas atribuidos a *Blastocystis hominis* son variables pero los más frecuentes son: diarrea líquida, dolores abdominales, vómitos, flatulencia, pérdida de peso, cefalea, anorexia, astenia, náusea, fiebre (aunque en algunos casos es afebril), y un aumento de eosinófilos en la sangre periférica (29,39,42,47-49). Sheehan y colaboradores reportan que ocasionalmente los pacientes pueden presentar disenteria y prurito anal (49).

Algunos autores han establecido que el número de células del microorganismo da su potencial patogénico. Se ha aceptado el propuesto por Phillips y Zierdt que consiste en observar 5 o más células por campo de 400 aumentos (anexo 6), otros han propuesto la misma cantidad de células pero en aumentos de 100 y 1000, y otros proponen que no importa el número de células ya que existen cepas que difieren en su virulencia (43,50-53). Se han reportado brotes causados por *Blastocystis hominis*, siendo reconocido como único agente infectante, lo que alerta su papel patogénico y confirma el posible mecanismo de transmisión feco-oral (47,52).

Estudios muy significativos han determinado el potencial patogénico de *Blastocystis hominis* como agente etiológico de diarrea crónica persistente o recurrente y de diarrea aguda, el cual ha sido encontrado como único agente, descartando implicación de otros parásitos, bacterias e incluso virus. En otros estudios se le ha encontrado acompañado de otros parásitos, en forma decreciente: *Entamoeba coli*, *Giardia lamblia*, *Endolimax nana*, *Entamoeba histolytica* y otros parásitos

comensales. También se asocia con bacterias principalmente del género *Salmonella* y con *Campylobacter jejuni*. La asociación con rotavirus o adenovirus es muy rara (47-51,54-59).

En los últimos años también ha cobrado importancia con respecto a su patogenicidad en pacientes inmunodeprimidos, principalmente en pacientes con SIDA o complejos relacionados, diabetes mellitus, cirrosis alcohólica, nefrocarcinoma y hepatitis crónica; a este tipo de pacientes se les ha observado grandes cantidades de células de *Blastocystis hominis* en las heces, y en la mayoría como único agente infectante. En un futuro puede ser indicador de inmunodeficiencia, debido al incremento de la pandemia del SIDA en los países tropicales y sub-tropicales (60-63). Algunos autores afirman que no posee patogenicidad, pero son muy escasos (64-67) ante la mayoría de autores que recalcan su potencial patogénico. Se recomienda que en el futuro se pueda establecer en forma definitiva los mecanismos de transmisión, patogenicidad y de la respuesta inmune (68-70).

3.1.5 Blastocystosis en Guatemala:

Hasta la fecha, Torres y colaboradores han sido los únicos en realizar estudios sobre *Blastocystis hominis* en Guatemala. Estos autores efectuaron dos trabajos sobre la prevalencia fecal de *Blastocystis hominis* en 1980 y 1982, los resultados obtenidos son los siguientes: la prevalencia fue 26.4 por ciento, la asociación con otros parásitos fue de 58.3 por ciento, sin guardar ninguna relación particular con los parásitos más

comunes en el medio guatemalteco. Con respecto a los síntomas prevaleció el dolor abdominal que lo presentaron el 39.42 por ciento de los pacientes; no observaron mayor frecuencia del protozoo en un grupo etario sin embargo la prevalencia fué ligeramente más alta en el sexo femenino (57.0%) que en el sexo masculino (43.0%). Concluyeron que se deben realizar más estudios en el futuro, y que mientras éstos se efectúan, deberá considerarse a *Blastocystis hominis* como no patógeno y nunca dar tratamiento para erradicarlo (71,72).

3.2 Diagnóstico de laboratorio:

3.2.1 Muestra:

Para realizar estudios coproparasitológicos se recomienda que las muestras fecales sean colectadas en recipientes secos, limpios y de boca ancha. La literatura recomienda el análisis mínimo de tres muestras fecales obtenidas en días alternos. Otros autores consideran que el análisis de seis muestras fecales obtenidas en días alternos asegura la detección de protozoos causantes de infección en un 90 por ciento, ya que los mismos no se encuentran en número constante todos los días en las muestras fecales. Las muestras líquidas deben ser procesadas durante los 30 minutos después de la obtención, las semiformes o blandas durante una hora y las formadas pueden ser analizadas después de más tiempo, pero si el proceso se prolonga pueden ser conservadas en refrigeración de 3 a 5 °C o con preservativos químicos como el formol al 10 por ciento o alcohol polivinílico (38,73). Un estudio reveló que para la detección

de protozoos un pool de tres muestras fecales conservadas en formol es más seguro y de menor costo que analizar muestras individuales, en ese estudio de comparación *Blastocystis hominis* fué encontrado en mayor porcentaje que otros protozoos (74).

3.2.2 Métodos de diagnóstico:

El diagnóstico de laboratorio de protozoos intestinales, incluyendo a *Blastocystis hominis*, debe llevarse a cabo en condiciones ideales mediante tres metodologías: a) observaciones en fresco, b) métodos de concentración y c) coloraciones. También pueden realizarse cultivos pero con fines de investigación (1,35,38).

3.2.2.1 Observación en fresco:

El material de las muestras fecales al realizar las observaciones directas en fresco pueden revelar o no los microorganismos según la concentración del protozoo. Se deben preparar dos frotos; suspender 2 mg de muestra fecal en solución salina fisiológica al 0.85 por ciento y otra cantidad igual con solución de lugol fuerte. Se detectan trofozoitos y el lugol efectúa una coloración preliminar de las estructuras celulares del protozoo (73,75,76).

También recomiendan realizar un frote agregando una gota de tinta china para visualizar la gruesa cápsula mucosa que rodea a la forma vacuolada (77).

3.2.2.2. Método de concentración salina:

Permite detectar un pequeño número de protozoos en las muestras fecales que pasan inadvertidas en la observación directa en fresco, utiliza procedimientos de centrifugación con la mezcla de las muestras fecales con solución salina fisiológica al 0.85 por ciento que permite separar los protozoos del exceso de desechos fecales por diferencias en su densidad, es un método rápido y sencillo con buenos resultados (75,76).

3.2.2.3. Método de concentración de Ritchie:

Es un método muy difundido que concentra trofozoitos y quistes de protozoos, como también larvas y huevos de helmintos. Es fácil y menos sujeto a errores técnicos. Está basado en separar los parásitos del exceso de desechos fecales por sus diferencias de peso específico, esto se logra por centrifugación. Este método utilizaba éter el cual es tóxico e inflamable, lo que provoca peligro en el laboratorio; por lo tanto, se debe usar la modificación que utiliza acetato de etilo, con los mismos resultados. El método es rápido y permite un alto grado de detección de protozoos (41,73).

3.2.2.4. Cultivos:

Zierdt y colaboradores desde 1967 demostraron que *Blastocystis hominis* crece en los medios cultivo de Boeck y Drbohlav en 3 días, y de Nelson y Jones de 10 a 15 días, a 37 °C y un pH entre 7 y 8 (13). Actualmente se recomienda cultivar en el medio difásico de Boeck y Drbohlav modificado, que consta de

una base de huevo duro y un revestimiento de solución de Locke que contenga 30 a 40 por ciento de suero humano o de caballo, en un ambiente de anaerobiosis, 36 °C, el tiempo de generación es de 8.5 a 19.4 horas. Los cultivos son viables durante 10 días a 36 °C, mueren en pocos días a temperatura ambiente o en una noche a 4 °C (1,75).

3.2.2.5. Otros:

Otras metodologías de importancia para el diagnóstico de *Blastocystis hominis* son las coloraciones. Las de mayor importancia son: a) coloración tricrómica, es un método sencillo y rápido que permite obtener extendidos bien coloreados, tanto para muestras fecales frescas como preservadas. b) coloración de Quensel, es un colorante supravital muy útil en la identificación exclusiva de trofozoitos y c) Hematoxilina férrica que es la clásica de las coloraciones para protozoos, produce coloraciones excelentes, pueden usarse muestras fecales frescas o preservadas, la desventaja es que requiere más tiempo (35,73,75,76). Otras coloraciones utilizadas son la de Giemsa o Wright que además de colorear las células de *Blastocystis hominis* permite identificar los leucocitos (20).

3.3 Tratamiento:

Se han realizado pruebas de susceptibilidad para *Blastocystis hominis* in vitro con diferentes drogas para elegir el mejor tratamiento. En orden decreciente de efectividad, se enumeran las siguientes: emetina, metronidazol, furazolidona,

trimetoprim/sulfametoxazol, 5-cloro-8-hidroxi-7-yodo-quinoleína (Entero Vioformo) y pentamidina. La cloroquina y diyodoquinoleína fueron moderadamente efectivas; ketoconazol, paromomicina y furoato de diloxanida no fueron efectivas (1). La mayoría de autores han determinado que la droga de elección es el metronidazol, para adultos 750 mg 3 veces al día durante 7 días (1,38,44) y para niños de 30 a 40 mg por kilogramo de peso diarios durante 10 días (52,78).

El metronidazol en algunos casos no es bien tolerado o presenta resistencia para *Blastocystis hominis*. Estudios revelan la alta efectividad del trimetoprim/sulfametoxazol por lo que recomiendan usarla como droga de elección para el tratamiento (79), también recomiendan usar yodoquinol que tiene un alto grado de efectividad (80). Para pacientes inmunodeprimidos el tratamiento adecuado es metronidazol 2000 mg diarios durante dos semanas (60-62).

3.4 Profilaxis:

Son varias las medidas fundamentales que se deben tomar para llevar acabo la profilaxis colectiva, pero se pueden resumir en tres: a) saneamiento del medio, relacionado específicamente con una adecuada eliminación de las excretas, basuras y la existencia de agua potable, b) realización de programas de educación sanitaria constante que tiendan a crear hábitos de higiene personal y familiar, c) programas de control en la higiene de los alimentos y de sus manipuladores (38).

4. JUSTIFICACIONES

En vista que Guatemala es un país del tercer mundo, en el que existen malas condiciones de vida y deterioro del saneamiento ambiental, el parasitismo (especialmente por protozoos) se presenta en un alto porcentaje de la población. Uno de los comúnmente encontrados en muestras de pacientes con diarrea es *Blastocystis hominis*, al cual no se le ha dado importancia clínica por los pocos datos que se tienen con respecto a su patogenicidad. Actualmente en alguna literatura se le considera un protozoo causante de diarrea, por lo que es indispensable realizar estudios sobre su prevalencia y patogenicidad en Guatemala y así contribuir a su diagnóstico, tratamiento y profilaxis, con el fin de encontrar mejoras en la salud de la población guatemalteca.

5. OBJETIVOS

A. Generales:

1. Determinar la prevalencia *Blastocystis hominis* y su asociación con enfermedad en pacientes que consultan el Hospital Nacional Pedro de Bethancourt de Antigua Guatemala.
2. Establecer el mejor método de laboratorio para diagnóstico de *Blastocystis hominis*.

B. Específicos:

1. Determinar la asociación de *Blastocystis hominis* con enfermedad, y su relación con otros protozoos, helmintos y bacterias patógenas.
2. Asociar la presencia de síntomas con la presencia de *Blastocystis hominis* en los pacientes.
3. Establecer diferencias en el examen macroscópico y microscópico de las heces de pacientes que están o no parasitados por *Blastocystis hominis*.
4. Comparar los métodos de laboratorio para diagnóstico de *Blastocystis hominis*.

6. HIPOTESIS

1. La prevalencia de *Blastocystis hominis* en las muestras de los pacientes a estudiar es mayor de 25.4 por ciento.
2. *Blastocystis hominis* está asociado con enfermedad.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Universo:

Pacientes que consultaron el Hospital Pedro de Bethancourt de Antigua Guatemala.

7.2 Muestras:

Se estudiaron 400 pacientes, así:

100 muestras de heces de pacientes de pediatría que presentaron diarrea.

100 muestras de heces de pacientes adultos que presentaron diarrea.

100 muestras de heces de pacientes de pediatría que no presentaron diarrea.

100 muestras de heces de pacientes adultos que no presentaron diarrea.

7.3 Recursos:

7.3.1 Humanos

Tesista que presenta el trabajo de investigación:

José Guillermo Carrillo Paredes

Asesor:

Lic. Miguel Francisco Torres Rubín

Coasesor:

Lic. Juan Carlos Quevedo Velásquez

7.3.2 Materiales:

7.3.2.1 Reactivos:

Solución salina al 0.85%

Lugol fuerte para heces

Acetato de etilo

Formaldehído al 37%

Agar MacConkey

Agar XLD

Agar SS

Agar TCBS

7.3.2.2 Cristalería:

Portaobjetos

Cubreobjetos

Pipetas Pasteur

Vasos plásticos

Coladores plásticos

Tubos cónicos de plástico

Tubos cónicos de vidrio

Pipetas serológicas

Probetas graduadas

Erlenmeyers

Asas bacteriológicas

7.3.2.3 Equipo:

Balanza

Centrífuga

Incubadora

Mechero de Bunsen

Microscopio

7.4 Procedimiento:

7.4.1 Se anotaron los datos personales y clínicos de los pacientes que consultaron el Hospital Nacional Pedro de Bethancourt solicitando exámenes coprológicos, se tomaron las muestras sanguíneas, se recibieron e ingresaron las muestras de heces al laboratorio donde se realizó el examen macroscópico y se anotó en la hoja específica (anexo 9).

7.4.2 Observación en fresco: se tomó un portaobjetos, donde se mezcló una porción de heces con una gota de solución salina fisiológica al 0.85 por ciento y otra porción con una gota de lugol fuerte y se cubrió con un cubreobjetos, se observaron al microscopio y se anotaron los resultados en la hoja respectiva (anexo 9).

7.4.3 Concentración salina: se colocaron 5 ml de solución salina fisiológica al 0.85 por ciento en un vaso plástico donde se mezcló un gramo de la muestra de heces hasta disolverla completamente, se coló por medio de una malla de plástico (colador). La solución colada se trasladó a un tubo cónico de plástico y se centrifugó a 2000 revoluciones por minuto durante cinco minutos, se decantó el sobrenadante y se homogenizó el sedimento para realizar las preparaciones en un portaobjetos

donde se mezcló con una gota de solución salina fisiológica al 0.85 por ciento y con una gota del lugol fuerte, se observaron al microscopio y se anotaron los resultados en la hoja respectiva (anexo 9).

7.4.4 Método de concentración de Ritchie: se tomó uno o dos gramos de heces y se mezcló con 10 ml de formalina al 10 por ciento, se tamizó en una gasa doble y se vertió a un tubo cónico de vidrio completando el volumen hasta 1 cm por debajo del borde del tubo con solución salina fisiológica al 0.85 por ciento, y se centrifugó a 2000 revoluciones por minuto durante dos minutos. Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en 10 ml de formalina al 10 por ciento, se le agregó 3 mililitros de acetato de etilo para análisis, se tapó y se agitó fuertemente durante treinta segundos y se centrifugó durante dos o tres minutos a 2000 revoluciones por minuto, se eliminó el sobrenadante y del sedimento se realizaron las preparaciones en un portaobjetos para observarlas al microscopio y se anotaron los resultados en la hoja respectiva (anexo 9).

7.4.5 Coprocultivos: cada una de las muestras de heces se inocularon en cajas de medio de cultivo MacConkey, XLD, SS y TCBS. Se realizaron las pruebas de confirmación para determinar géneros y especies de las bacterias patógenas aisladas y se anotaron los resultados en la hoja respectiva (anexo 9).

7.5 Diseño Experimental:

7.5.1 Estudio Epidemiológico:

El cálculo de la prevalencia de *Blastocystis hominis* fue en base a los resultados obtenidos por el método de concentración de Ritchie (método de referencia) (81).

$$\text{Tasa de prevalencia} = \frac{\text{No. de positivos}}{\text{No. total}} \times 100$$

7.5.2 Asociación con enfermedad:

Se estableció la asociación de *Blastocystis hominis* con la enfermedad; utilizando la prueba de Razón de Probabilidad y Riesgo Atribuible (82,83).

Criterios de inclusión para los pacientes con diarrea:

1. Presencia de diarrea.
2. Sin tratamiento.

Criterios de inclusión para los pacientes sin diarrea:

1. Ausencia de síntomas gastrointestinales.
2. Sin tratamiento.

Se elaboró una tabla de contingencia 2x2 que permitió estimar la medida de la asociación estadística entre los factores de riesgo y la enfermedad.

		ENFERMEDAD		
		No. de casos con diarrea	No. de casos Sin diarrea	Total
<i>B. hominis</i>	Presente	a	b	a + b
	Ausente	c	d	c + d
	Total	a + c	b + d	N

$$\text{Razón de Probabilidad} = \frac{a * d}{b * c}$$

Estimado por el 95 por ciento de intervalo de confianza en base a la fórmula:

$$RP \left[1 \pm \frac{1.96}{X} \right] \quad \text{donde}$$

RP = Razón de Probabilidad.

X = Raíz cuadrada del valor de Chi-cuadrado, obtenido de la tabla de contingencia 2x2.

$$\text{Riesgo Atribuible} = \frac{b(RR - 1)}{b(RR - 1) + 1} \quad \text{donde}$$

RR = Riesgo Relativo.

$$RR = \frac{a/(a+b)}{c/(c+d)}$$

b = Proporción del total de la población con el factor de riesgo.

7.5.3 Comparación de los métodos:

Se utilizaron las pruebas de Chi-cuadrado y Diagonal de Concordancia (81,83).

Prueba de Chi-cuadrado para c grupos independientes.

Hipótesis: H_0 : La frecuencia de *Blastocystis hominis* es igual en cada uno de los métodos.

H_1 : La frecuencia de *Blastocystis hominis* no es igual en cada uno de los métodos.

Se elaboró una tabla r por c :

Donde r = presencia o ausencia de *Blastocystis hominis*.

c = métodos de laboratorio. (M)

r	c	M_1	M_2	M_3	Total
Presente					
Ausente					
Total					

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \frac{(n_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Grados de libertad: $GL = (r-1)(c-1)$ $GL=2$

χ^2 teórico para 0.05, 2 GL. = 5.991

Decisión: H_0 se rechaza si χ^2 encontrada es mayor que χ^2 teórica, si se rechaza se aceptará H_1 y se concluirá que los métodos difieren entre sí.

Prueba de Diagonal de Concordancia: mide la proporción de las veces en que los métodos están de acuerdo expresado en porcentaje.

$$\text{Diagonal de Concordancia} = \frac{D}{n} * 100 \quad \text{donde}$$

D = Suma de las veces en que están de acuerdo los métodos.

n = Número total de pruebas analizadas por los métodos.

8. RESULTADOS

En un total de 400 muestras fecales correspondientes a igual número de pacientes, se encontró *Blastocystis hominis* en el 25.50 por ciento. La asociación de *Blastocystis hominis* con enfermedad por grupo etario demostrada por la razón de probabilidad fue de 1.68 en niños con 95 por ciento de intervalo de confianza de -1.48 a 4.84 y de 8.08 en adultos con 95 por ciento de intervalo de confianza de 3.88 a 12.28. El riesgo atribuible encontrado para los niños fue de 0.22 y para los adultos de 0.48.

Se encontró que la frecuencia de *Blastocystis hominis* entre los métodos utilizados fue diferente, con una χ^2 calculada de 57.63 mayor que χ^2 teórico de 5.991 ($p < 0.001$). La diagonal de concordancia entre los métodos con respecto al método de concentración de Ritchie fue de 63 por ciento para el método de observación en fresco y de 89 por ciento para el método de concentración salina.

De las 103 muestras positivas, 57 (55.34%) presentaron *Blastocystis hominis* como parásito único, de las cuales 21 (26.31%) fueron de niños sin diarrea y 13 (14.04%) fueron de adultos sin diarrea, encontrándose asociado a otros parásitos intestinales en 46 (44.66%) (anexo 7) y en un sólo caso asociado a *Shigella flexneri* (0.25%). De los 57 pacientes que presentaron *Blastocystis hominis* como parásito único se encontró eosinofilia leve en 7.77 por ciento, y la sintomatología más frecuente: diarrea, dolor abdominal, anorexia, cefalea,

flatulencia, y adinamia (anexo 8).

El examen macroscópico de las heces donde se identificó *Blastocystis hominis* no presentaron características relacionadas específicamente a este protozoo, solamente prevaleció la consistencia semiformada, pH 7 y el 14.0 por ciento presentó leucocitos polimorfonucleares. Con respecto a la edad, se encontró *Blastocystis hominis* en muestras de niños de 3 meses hasta adultos de 70 años, prevaleció el sexo femenino (69.90%) sobre el masculino (30.10%), de las 400 muestras analizadas, 271 fueron de pacientes de sexo femenino.

La forma de *Blastocystis hominis* más frecuentemente observada fue la vacuolada, en proceso de fisión binaria como parte de su ciclo vital y en un sólo caso la granular.

9. DISCUSION

De acuerdo con algunas publicaciones *Blastocystis hominis*, clasificado desde 1967 como un protozoo, es capaz de ocasionar diarrea y transtornos gastrointestinales (1,13,43). Otros autores recomiendan realizar más estudios para determinar el papel patogénico según la presencia única y número de células de *Blastocystis hominis* para considerarlo causante de la sintomatología que presentan los pacientes (68,70).

Guatemala se encuentra en vías de desarrollo y se reconoce un alto índice de parasitismo intestinal, la tasa de prevalencia total de *Blastocystis hominis* encontrada de 25.50 por ciento en una parte de su población, es considerada alta, a pesar de que no se comprobó la hipótesis de ser mayor a la reportada en los años de 1980 y 1982 de 26.4 por ciento (71,72), sí se encuentra entre los promedios de las tasas de prevalencia publicadas por otros autores (28,31,33-39).

Con respecto a la asociación de *Blastocystis hominis* con enfermedad demostró en los niños que el hecho que esté presente *Blastocystis hominis* hace 1.68 veces más posible pensar en que la diarrea estará presente independientemente de otros parásitos, pues la asociación se buscó sólo cuando *Blastocystis hominis* estuviera presente y hubiera diarrea respecto a un grupo control sin diarrea, tomando el intervalo de confianza, de 100 veces el 95 por ciento de las veces la presencia de *Blastocystis hominis* se mantendrá con el valor de razón de probabilidad entre -1.48 a 4.84 y en los adultos que el hecho que esté presente

Blastocystis hominis hace 8.08 veces más posible pensar en que la diarrea estará presente independientemente de otros parásitos, pues la asociación se buscó sólo cuando *Blastocystis hominis* estuviera presente y hubiera diarrea respecto a un grupo control sin diarrea, tomando el intervalo de confianza, de 100 veces el 95 por ciento de las veces la presencia de *Blastocystis hominis* se mantendrá con el valor de razón de probabilidad entre 3.88 a 12.28, esto significa que en los niños se puede perder la asociación y en los adultos se mantiene, lo que comprobó la hipótesis establecida en el estudio. El riesgo atribuible a *Blastocystis hominis* encontrado en los niños es bajo (22%) representa que 1 de 5 niños va a presentar diarrea y en los adultos un valor medio (48%) representa que 1 de 2 adultos va a presentar dicho síntoma.

Al analizar estadísticamente los métodos de laboratorio empleados se comprobó que la frecuencia de *Blastocystis hominis* difiere en cada uno de los métodos y se aceptó la hipótesis: la frecuencia de *Blastocystis hominis* no es igual en cada uno de los métodos ($p < 0.001$). Se estableció el acuerdo entre los métodos, por lo que se recomiendan los métodos de concentración salina y concentración de Ritchie (89%) y no usar el método de observación en fresco (63%). La presencia de *Blastocystis hominis* como parásito único en 57 muestras, 21 fueron de niños sin diarrea y 13 fueron de adultos sin diarrea, lo que confirma su asociación con enfermedad, y puede presentarse como un comensal o parásito patógeno secundario al estar asociado con otros parásitos intestinales: *Ascaris lumbricoides*, *Entamoeba*

coli, *Trichuris trichiura*, *Endolimax nana*, *Entamoeba histolytica*, *Iodamoeba bütschlii*, *Trichomonas hominis*, *Giardia lamblia*, *Strongyloides stercoralis*, *Uncinaria* y en un sólo caso asociado a *Shigella flexneri*, lo que comprueba su baja asociación con bacterias enteropatógenas.

La sintomatología que se encontró en los pacientes con *Blastocystis hominis* como agente único fue: la ausencia o presencia de diarrea, dolor abdominal, anorexia, cefalea, flatulencia, adinamia, cólico, náusea, fiebre, pérdida de peso, vómito, astenia, urticaria y geofagia que coinciden a lo reportado por varios autores (29,39,42,47-49), así como la eosinofilia leve en un 7.77 por ciento reportada también por Feldman(20).

Los resultados obtenidos de los exámenes macroscópicos de las heces no son exclusivos de la presencia de *Blastocystis hominis*, aunque la consistencia semiformada difiere a la reportada en la literatura, el pH 7 demuestra la viabilidad del protozoo a ese pH y la presencia de leucocitos fecales puede darse en otras patologías. Es importante señalar que a *Blastocystis hominis* se encontró en todas las edades con un rango desde 3 meses a los 70 años lo que coincide con lo reportado por algunos autores (34). Con respecto al sexo prevaleció el sexo femenino sobre el masculino, aunque no es conclusivo por el predominio de pacientes de sexo femenino tomados para el estudio. La forma de *Blastocystis hominis* que más se observó fue la vacuolada, en un sólo caso la granular, lo que coincide con lo publicado por Zierdt y colaboradores(13-15).

La prevalencia de *Blastocystis hominis* en Guatemala es alta, está asociado con sintomatología y el método de elección para observar este protozoo es el método de concentración salina, y es mejor si se implementa el método de concentración de Ritchie. Se debe capacitar al personal de los laboratorios clínicos para no confundirlo con leucocitos y otras amebas. Se debe considerar obligatorio reportar la presencia de *Blastocystis hominis*, y en base a la sintomatología y ausencia de otros enteropatógenos dar el tratamiento adecuado (metronidazol).

10. CONCLUSIONES

- 10.1 La tasa de prevalencia total de *Blastocystis hominis* encontrada fue de 25.50 por ciento.
- 10.2 La asociación de *Blastocystis hominis* demostrada por la razón de probabilidad fue de 1.68 en niños con 95 por ciento de intervalo de confianza de -1.48 a 4.84 y de 8.08 en adultos con 95 por ciento de intervalo de confianza de 3.88 a 12.28.
- 10.3 El riesgo atribuible a *Blastocystis hominis* encontrado fue de 0.22 en niños y de 0.48 en adultos.
- 10.4 Existen diferencias en la efectividad de cada uno de los métodos de laboratorio empleados para el diagnóstico de *Blastocystis hominis*.
- 10.5 Existe un acuerdo de 89 por ciento entre los métodos de concentración salina y concentración de Ritchie (método de referencia), y un 63 por ciento entre los métodos de observación en fresco y concentración de Ritchie (método de referencia).
- 10.6 Los métodos de laboratorio más adecuados para diagnosticar *Blastocystis hominis* son los de concentración salina y concentración de Ritchie.
- 10.7 Se encontró que de 103 muestras positivas para *Blastocystis hominis*, 57 (55.34%) fue como parásito único y 46 (44.66%) asociado a otros parásitos intestinales.

- 10.8 Los parásitos más frecuentemente encontrados con *Blastocystis hominis* fueron: *Ascaris lumbricoides*, *Entamoeba coli* y *Trichuris trichiura*.
- 10.9 Los síntomas más frecuentemente encontrados con la presencia de *Blastocystis hominis* fueron: diarrea, dolor abdominal, anorexia, cefalea, flatulencia y adinamia.
- 10.10 Los pacientes que se les diagnosticó *Blastocystis hominis* como agente único presentaron una eosinofilia leve en 7.77 por ciento.
- 10.11 La edad de los pacientes donde se encontró *Blastocystis hominis* osciló desde los 3 meses a los 70 años.
- 10.12 La forma de *Blastocystis hominis* más frecuentemente observada fue la vacuolada.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Implementar los métodos de concentración salina y de Ritchie en todos los laboratorios clínicos del país, para diagnosticar con facilidad a *Blastocystis hominis*, y a la mayoría de parásitos intestinales que comúnmente afectan a la población guatemalteca.
- 11.2 Capacitar al personal de los laboratorios clínicos del país, para que puedan reconocer al protozoo *Blastocystis hominis*.
- 11.3 Reportar siempre el hallazgo de *Blastocystis hominis*.
- 11.4 Actualizar a todo el personal que trabaja en salud sobre la clasificación taxonómica, epidemiología, patogenicidad y tratamiento de *Blastocystis hominis*.
- 11.5 Realizar más estudios para determinar la prevalencia, patogenicidad y tratamiento de *Blastocystis hominis* en la población guatemalteca de diferentes regiones y estaciones de tiempo.
- 11.6 Con la pandemia del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) darle importancia al diagnóstico de *Blastocystis hominis* como agente causante de diarrea en pacientes seropositivos a VIH e inmunocomprometidos.

12. REFERENCIAS

1. Zierdt CH. *Blastocystis hominis*, a long-misunderstood intestinal parasite. *Parasitology Today* 1988; 4:15-17.
2. Prowasek S. Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. *Arb K Gesundheitsamte* 1904; 21:1-41.
3. Alexeieff A. Sur la nature des formations dites "Kystes de *Trichomonas intestinalis*". *C R Soc Biol* 1911; 71:296-298.
4. Brumpt E. Colite a *Tetramitus mesnili* (Wenyon 1910) et colite a *Trichomonas intestinalis* Leuckart 1879. *Blastocystis hominis* n. sp. et formes voisines. *Bull Soc Pathol Exot* 1912; 5:725-730.
5. Alexeieff A. Sur la cycle évolutif et les affinités de *Blastocystis enterocola*. *Arch Zool Exp Gen* 1917; 56:113-128.
6. Lynch KM. Cultivation of *Blastocystis* and determination of species. *Am J Trop Med* 1922; 2:539-549.
7. Aragao HB. Estudos sobre os *Blastocystis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1922; 15:240-250.
8. Bach FW, Keifer KH. Untersuchungen über *Blastocystis* *Cent Bkt* 1, Abt orig 1922; 89:72-98.
9. Knobles RG, Das Gupta BM. On the nature of *Blastocystis hominis* *Indian J Med Res* 1924; 12:31-38.
10. Ivanic M. *Arch f Protistenk* 1937; 87:242-247.

11. Shilling C, Santoni DA. Zbl f Bakt, I° Abt orig 1936; 137:293-298.
12. Redaelli P, Ciferri R. Ulteriori osservazioni su *Blastocystis* della rana e conferma della natura e posizione sistematica dell' Alga. Mycopathologia 1939; 2:239-252.
13. Zierdt CH, Willadene SR, Brian SB. Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. Am J Clin Pathol 1967; 48:495-501.
14. Zierdt CH. Studies *Blastocystis hominis*. J Protozool 1973; 20:114-121.
15. Tan HK, Zierdt CH. Ultrastructure of *Blastocystis hominis*. Z Parasitenk 1973; 42:315-324.
16. Tan HK, Harrison M, Zierdt CH. Freeze-Etch studies of the granular and vacuolated forms of *Blastocystis hominis*. Z Parasitenk 1974; 44:267-278.
17. Zierdt CH. Williams RL. *Blastocystis hominis*: Axenic cultivation. Exp Parasitol 1974; 36:233-243.
18. Zierdt CH, Tan HK. Ultrastructure and light microscope appearance of *Blastocystis hominis* in a patient with enteric disease. Z Parasitenk 1976; 50:277-283.
19. Zierdt CH, Tan HK. Endosymbiosis in *Blastocystis hominis*. Exp Parasitol 1976; 39:422-439.

20. Feldman RE. Un nuevo parásito intestinal: *Blastocystis hominis*; reubicación taxonómica y comprobación de su acción patógena. Acta Bioquim Clin Latinoam 1987; 21:357-361.
21. Garcia LS, Bruckner DA. Diagnostic medical parasitology. New York: Elsevier, 1988. XII+500 p. (p. 54-58,464,467).
22. Melvin DM, Healy GR. Intestinal and urogenital protozoa. p. 631-650. (In Lennette EH, et al. Manual of clinical microbiology. 4 ed. Washington, D. C.: American Society for Microbiology, 1985. XVI+1149p).
23. Baron EJ, Tenover FC, Tenover FC. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 9 ed. Louis, United States of America: Mosby, 1990. X+925p.
24. Joklik WK, Willett HP, Amos DB. Zinsser Microbiología. 18 Ed. Meeroff NG, trad. Buenos Aires, Argentina:Panamericana 1454p.
25. Yoshikawa H, Yamada M, Yoshida Y. Freeze-fracture study of *Blastocystis hominis*. J Protozool 1988; 35:522-528.
26. Levine ND, et al. A newly revised classification of the protozoa. J Protozool 1980; 27:37-58.
27. Zierdt CH, et al. Biochemical and Ultrastructural study of *Blastocystis hominis*. J Clin Microbiol 1988; 26:965-970.
28. Miller RA, Minshew BH. *Blastocystis hominis*: an organism in search of a disease. Rev Infect Dis 1988; 10:930-938.

29. The Lancet. *Blastocystis hominis*: commensal or pathogen?. Lancet 1991; 337:521-522.
30. Kain KC, et al. Epidemiology and clinical features associated with *Blastocystis hominis* infection. Diagn Microbiol Infect Dis 1987; 8:235-244.
31. Doyle Pw, et al. Epidemiology and pathogenecity of *Blastocystis hominis*. J Clin Microbiol 1990; 28:116-121.
32. Garavelli PL, Scaglione L. Blastocystosis, an epidemiological study. Microbiologica 1989; 12:349-350.
33. McClure E, et al. Exámenes de heces para la detección de parásitos una comparación de dos métodos. Rev Med Panamá 1984; 9:226-229.
34. Riveron R, et al. Etiología bacteriana y parasitaria de las enfermedades diarreicas agudas: estudio de 192 pacientes. Rev Cubana Ped 1990; 62:718-727.
35. Castrillo A, González AJ, Tirado E. Frecuencia de infección por *Blastocystis hominis*: un año de estudio. GEN 1990; 44:217-220.
36. Teixeira A, et al. *Blastocystis hominis*: prevalencia e patogenicidade. Rev Bras Patol Clin 1989; 25:7-9.
37. Mercado R, Aravena A, Schenone H. Frecuencia de infecciones por protozoos y helmintos intestinales en escolares del sector norte de la región metropolitana, Santiago, Chile

- 1988-1989. *Pediatría* (Santiago de Chile) 1989; 32:77-80.
38. Wittner M, Tanowitz HB. Parásitos intestinales en viajeros que ya regresaron. p. 1491-1508. (En Wolfe MS. *Clínicas médicas de norteamérica*. Rivera B, trad. México: Interamericana, vol. 6, 1992. XI+204p.).
39. Qadri SMH, Al-Okaili GH, Al-Dayel F. Clinical significance of *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol* 1989; 27:2407-2409.
40. Senay H, MacPherson D. *Blastocystis hominis*: epidemiology and natural history. *J Infect Dis* 1990; 162:987-990.
41. Atias A. *Parasitología clínica*. 3 ed. Santiago, Chile: Mediterraneo, 1991. 618p.
42. Sapunar J. Algunas consideraciones sobre *Blastocystis hominis*. *Parasitol al día* 1990; 14:83-85.
43. Phillips BP, Zierdt CH. *Blastocystis hominis*: pathogenic potential in human patients and in gnotobiotics. *Exp Parasitol* 1976; 39:358-364.
44. Cohen AN. Ketoconazole and resistant *Blastocystis hominis* infection. *Ann Int Med* 1985; 103:480-481.
45. Garavelli FL, et al. Pathogenesis of blastocystosis. *Lancet* 1991; 338:57.
46. Zierdt CH. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol* 1991; 29:662.

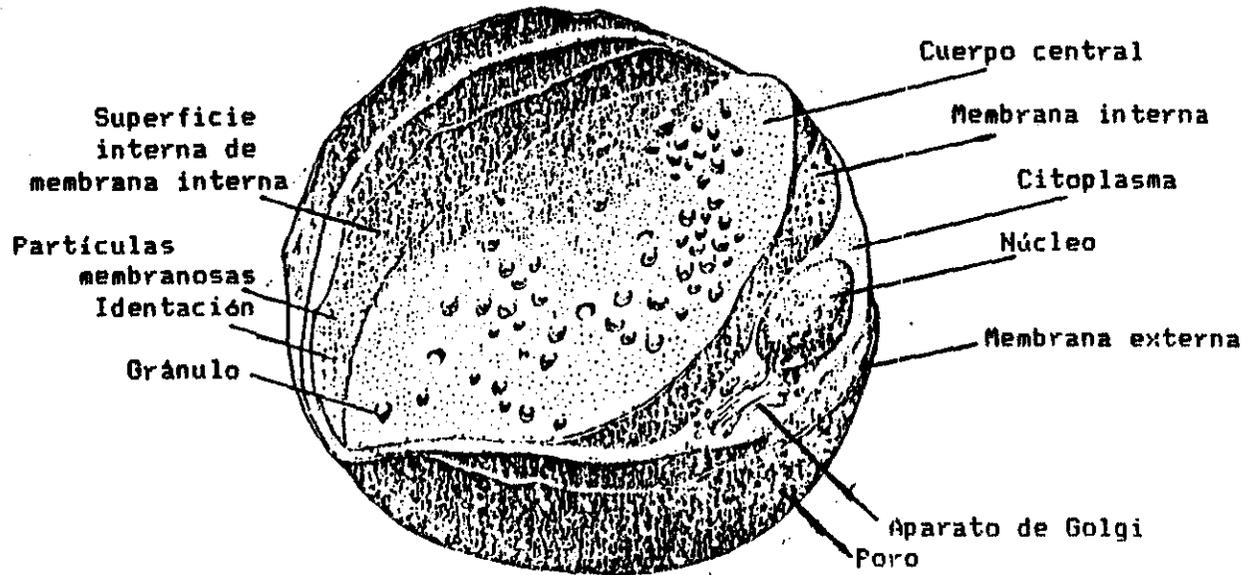
47. LeBar WD, Larsen EC, Patel K. Afebrile diarrhea and *Blastocystis hominis*. Ann Int Med 1985; 103:306.
48. Guglielmetti P, et al. Family outbreak of *Blastocystis hominis* associated gastroenteritis. Lancet 1989; ii:1394.
49. Sheehan DJ, Raucher BG, McKittrick JC. Association of *Blastocystis hominis* with signs and symptoms of human disease. J Clin Microbiol 1986; 24:548-550.
50. Reyes L, Chinchilla M. *Blastocystis hominis* morfologia, patologia y tratamiento. Rev Costarric Cienc Med 1988; 9:171-179.
51. Kain K, Noble M. *Blastocystis hominis* infection in humans. Rev Infect Dis 1989; 11:508-509.
52. Libanore M, et al. Outbreak of blastocystosis in institution for the mentally retarded. Lancet 1991; 337:609-610.
53. Qadri SMH. Association of *Blastocystis hominis* with human disease. J Clin Microbiol 1990; 28:1085-1086.
54. Waghorn DJ, Hancock P. Clinical significance of *Blastocystis hominis*. Lancet 1991; 337:609.
55. Guglielmetti P, et al. Pathogenesis of blastocystosis. Lancet 1991; 338:57.
56. Bratt DE, Tikasingh ES. *Blastocystis hominis* in two children of one family. W I Med J 1990; 39:57-58.

57. García LS, Bruckner DA, Clancy MN. Clinical relevance of *Blastocystis hominis*. Lancet 1984; i:1233-1234.
58. Lee MJ. pathogenicity of *Blastocystis hominis*. J Clin Microbiol 1991; 29:2089.
59. Astorga B, Weitz JC, Herskovic F. *Blastocystis hominis* un nuevo agente patógeno?. Rev Med chile 1988; 116:814.
60. Garavelli PL, Orsi P, Scaglione L. *Blastocystis hominis* infection during AIDS. 1988; 2:1364.
61. Llibre JM, et al. *Blastocystis hominis* chronic diarrhoea in AIDS patients. Lancet 1989; 1:221.
62. Garavelli PL, Libanore M. *Blastocystis* in immunodeficiency diseases. Rev Infect Dis 1990; 12:158.
63. Garavelli L, Scaglione L. *Blastocystis hominis* es un agente oportunista en el SIDA. Terapia Antibiótica Actual Pfizer, Doc. Tec. vol.4 No. 2, 1991. 8p. (p.3).
64. Markell EK, Udkow MP. Association of *Blastocystis hominis* with human disease. J Clin Microbiol 1988; 26:609.
65. Markell EK, Udkow MP. Association of *Blastocystis hominis* with human disease? J Clin Microbiol 1990; 28:1085.
66. Rosenblatt JE. *Blastocystis hominis*. J Clin Microbiol 1990; 28:2379.
67. Rosenblatt JE. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*. J Clin Microbiol 1991; 29:662-663.

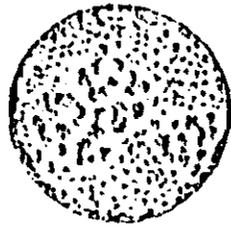
68. Sheehan DJ. Association of *Blastocystis hominis* with human disease. J Clin Microbiol 1988; 26:609-610.
69. Pikula ZP. Association of *Blastocystis hominis* with human disease. J Clin Microbiol 1988; 26:610.
70. Qadri SMH. *Blastocystis hominis*. J Clin Microbiol 1990; 28:2379-2389.
71. Torres MF, et al. Prevalencia fecal de *Blastocystis hominis* en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Doc Tec. No.35, 1980. 12p.
72. Torres M, Dubois MA, Cabrera ME. Prevalencia fecal de *Blastocystis hominis* en Guatemala. Rev Col Méd Guatemala 1982; 33:33-35.
73. Finegold SM, Martin WJ. Bailey-Scott diagnóstico microbiológico. 6 ed. Lorenzo I, trad. Buenos Aires, Argentina: Panamericana, 1983 670p. (p.446-470).
74. Aldeen WE, et al. Comparison of pooled formalin-preserved fecal specimens with three individual samples for detection of intestinal parasites. J Clin Microbiol 1993; 31:144-145.
75. Beck JW, Davies JE. Parasitología médica. 3 ed. Mata RE, trad. México: Interamericana, 1984. VIII+340p. (p.308-325).
76. Brown HW, Neva FA. Parasitología clínica. 5 ed. Folch R, trad. México: Interamericana, 1985. XIV+360p. (p.333-343).

77. Vannatta JB, Adamson D, Mullikan K. *Blastocystis hominis* infection presenting as recurrent diarrhoea. *Ann Int Med* 1985; 102:495-496.
78. Fitzgerald JF. Management of acute diarrhea. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8:564-569.
79. Schwartz E, Houston R. Effect of co-trimoxazole on stool recovery of *Blastocystis hominis*. *Lancet* 1992; 339:428-429.
80. Grossman I, et al. *Blastocystis hominis* in hospital employees. *Am J Gastroenterol* 1992; 87:729.
81. Daniel WW. Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud. Guzmán M, trad. México: Limusa, 1987. 667p. (p.459-500,626).
82. Delgado L, Valverde V. Manual de investigación epidemiológica. Guatemala: Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, Doc Tec. L 39, 1986. iii+10.8p. (p.2.1-2.14, 9.1-9.17).
83. Saunders BD, Trapp RG. Bioestadística médica. Carsolio MR, trad. México: El Manual Moderno, 1993. 380p. (p.64-68).

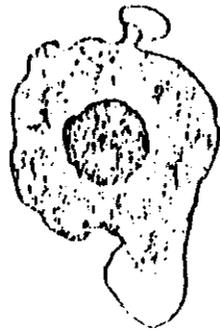
13. ANEXOS
ANEXO 1



Dibujo esquemático de *Blastocystis hominis* demostrando sus principales componentes estructurales (16).



3



2



1

Morfología de *Blastocystis hominis* (14).

1. Forma vacuolada.
2. Forma ameboide.
3. Forma granular.

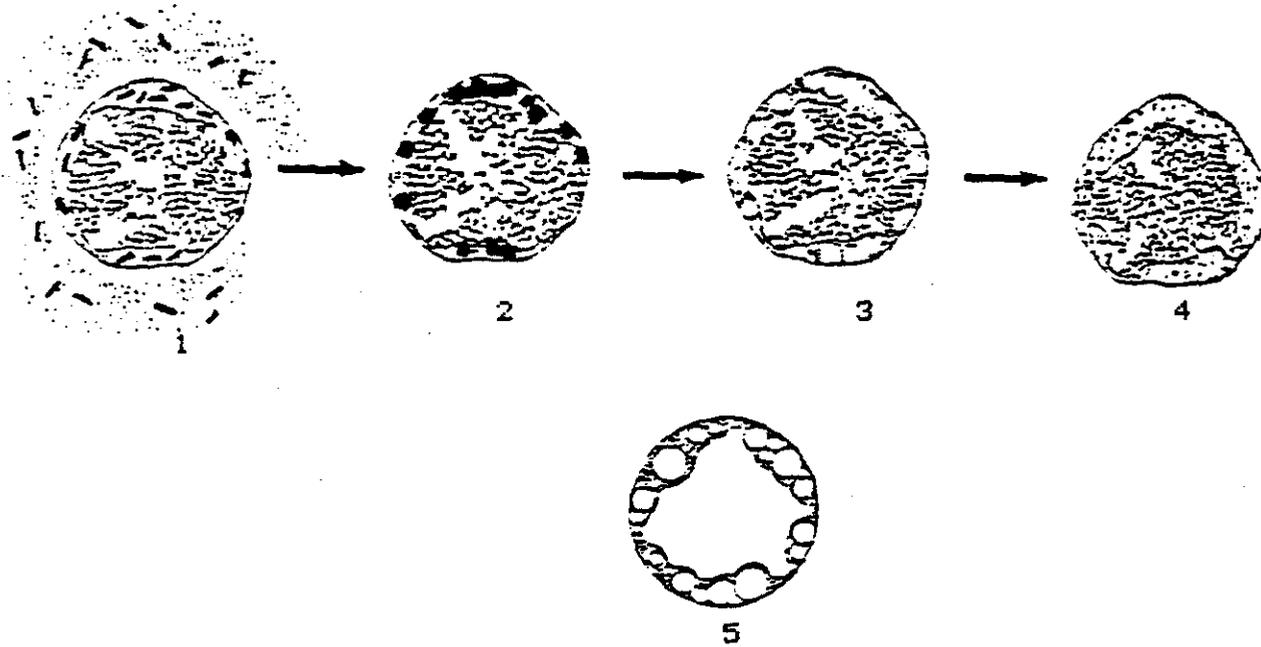


Diagrama esquemático señalando las diferentes formas vacuoladas (14).
1-4. Digestión de bacterias.
5. Inclusiones de lípidos en la periferia del citoplasma.

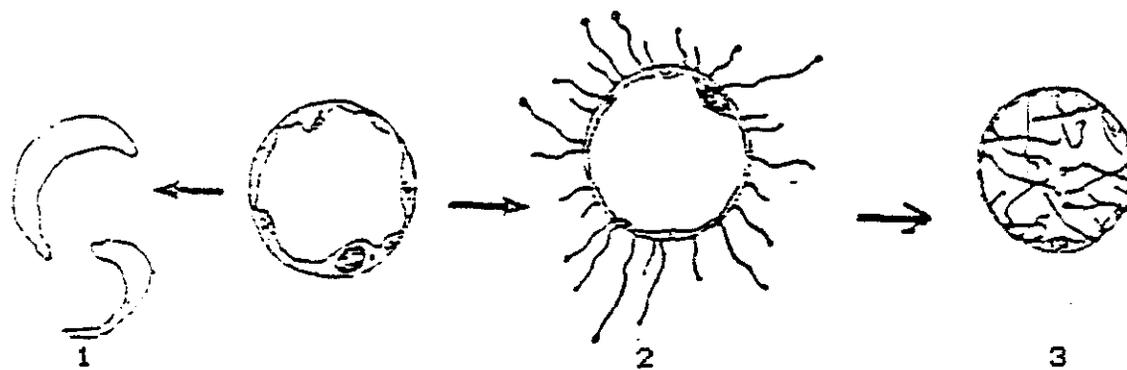


Diagrama esquemático de los cambios estructurales causadas por la exposición al aire de la forma vacuolada (14).

1. Colapso de membranas.
2. Radiación de filamentos.
3. Adhesión de filamentos a la superficie.

ANEXO 5

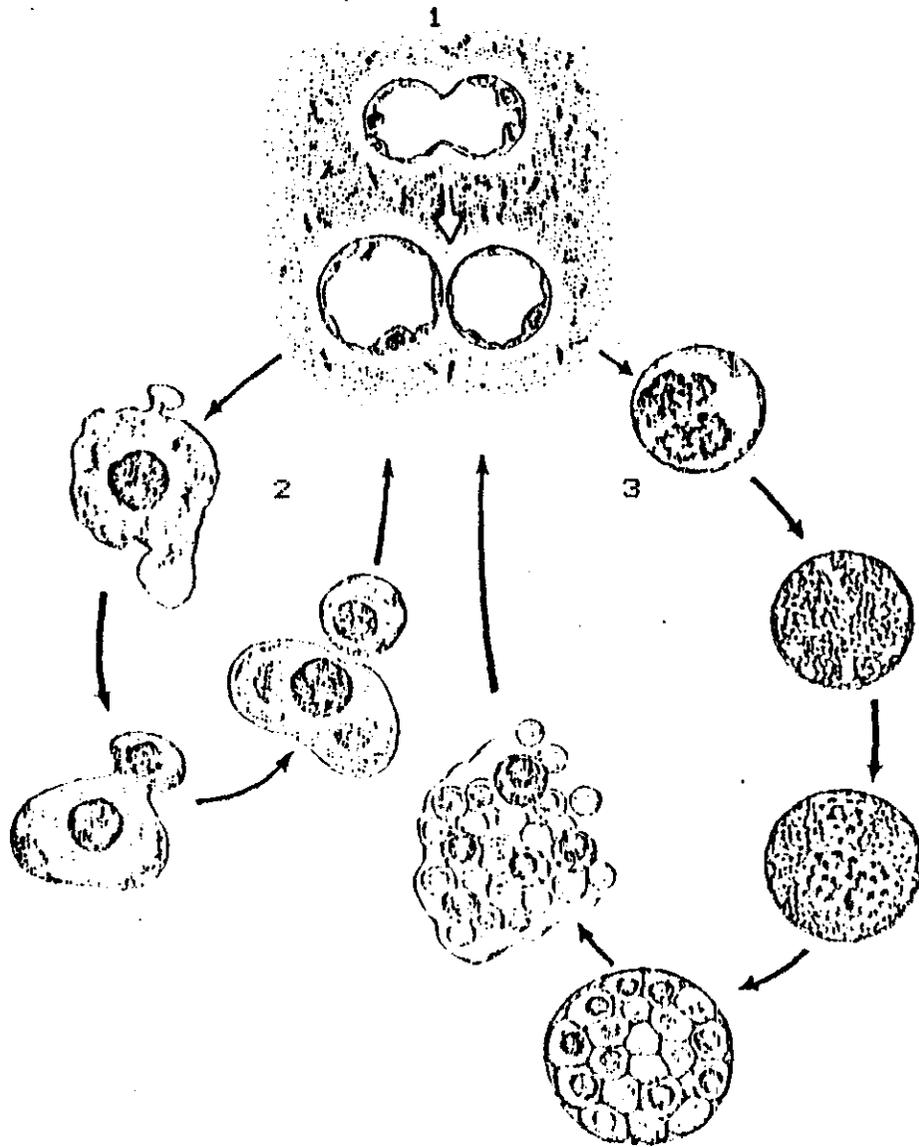


Diagrama esquemático del ciclo vital de *Blastocystis hominis* (14).

1. Fisión binaria.
2. Endodiogenia.
3. Esquizogonia.

ANEXO 6

Diagnóstico de *Blastocystis hominis*
Escala de Phillips y Zierdt (50).

Estimación 400x	Número de células vacuoladas por campo	Informe convencional
Escasos	menor de 1	+
Regular cantidad	2 a 5	+ +
Abundantes	6 a 10	+ + +
Muy abundantes	mayor de 10	+ + + +

ANEXO 7

Porcentaje de asociación parasitaria con
Blastocystis hominis

Parásito	Porcentaje
<i>Ascaris lumbricoides</i>	27.39
<i>Entamoeba coli</i>	20.55
<i>Trichuris trichiura</i>	15.07
<i>Endolimax nana</i>	9.59
<i>Entamoeba histolytica</i>	9.59
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	9.59
<i>Trichomonas hominis</i>	2.74
<i>Giardia lamblia</i>	2.74
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1.37
<i>Uncinaria</i>	1.37

n=46 *Blastocystis hominis* y otros parásitos intestinales.

ANEXO 8

Síntomas hallados en pacientes infectados por
Blastocystis hominis

Síntomas	Porcentaje
Diarrea	19.21
Dolor abdominal	14.12
Anorexia	11.86
Cefalea	11.30
Flatulencia	8.47
Adinamia	6.22
Cólico	5.65
Náusea	5.08
Fiebre	4.53
Pérdida de peso	4.53
Vómito	3.95
Astenia	3.39
Urticaria	1.13
Geofagia	0.56

n=57 *Blastocystis hominis* único parásito intestinal.

ANEXO 9
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
ESCUELA DE QUIMICA BIOLOGICA

Clave: _____

PREVALENCIA Y PATOGENICIDAD DE *Blastocystis hominis* EN UN GRUPO
DE PACIENTES DEL HOSPITAL NACIONAL PEDRO DE BETHANCOURT, ANTIGUA GUATEMALA

HOJA DE INFORMACION Y RESULTADOS

Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: _____

Domicilio: _____ Fecha: _____

DATOS CLINICOS:

Diarrea:	Vómito:	Fiebre:	Anorexia:
No. evac/día:	Pérdida de peso:	Cefalea:	Astenia:
Dolor abdominal:	Cólicos:	Adinamia:	Geofagia:
Náusea:	Flatulencia:	Urticaria:	Otros:

Ausente=0 Presente=X

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO:COPROLOGIA:Examen Macroscópico: Color: _____ Consistencia: _____ pH: _____
Sangre: _____ Mocos: _____ Restos Alim.: _____ Parásitos: _____Examen Microscópico:Observación en Fresco: Cel. Vegetales: _____ Grasas: _____ Jabones: _____

Almidones: _____ Leucocitos: _____ Eritrocitos: _____ Levaduras: _____

Blastocystis hominis No: _____ Si: _____ Cantidad: _____

Otros Parásitos: _____

Concentración Salina:*Blastocystis hominis* No: _____ Si: _____ Cantidad: _____

Otros Parásitos: _____

Método de concentración de Ritchie:*Blastocystis hominis* No: _____ Si: _____ Cantidad: _____

Otros Parásitos: _____

COPROCULTIVO:

Mac-Conkey: _____ L+ _____ L- _____ TCBS: _____ S+ _____ S- _____

SS: _____ L+ _____ L- _____ XLD: _____ X+ _____ X- _____

Medio	TSI	LIA	SIM	CIT.	UREA	OXI.	SERO.	OTROS

Resultado: _____ Fecha: _____

HEMATOLOGIA:

Recuento de leucocitos: _____

Fórmula leucocitaria: Neut. _____ % Linf. _____ % Mon. _____ % Eos. _____ % Bas. _____ %