

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Epidemiología de *Blastocystis* spp. en Aragón

Epidemiology of *Blastocystis* spp. in Aragón

Autora

Cristina Matovelle Ochoa

Directoras

Dra. Encarnación Rubio Aranda

Dra. M^a Pilar Goñi Cepero

Máster Universitario en Salud Pública

Facultad de Medicina

Universidad de Zaragoza

2017-2018

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a mis padres por la confianza depositada y permitir por medio de su apoyo poder realizar este Master.

Además, agradezco a mis directoras, la Dra. Pilar Goñi y la Dra. Encarnación Rubio, por el apoyo y paciencia no sólo durante la realización del trabajo, sino también durante todo este año. Gracias por todos los ánimos recibidos, que me han ayudado a seguir luchando durante un año complicado.

Deseo hacer mención que este trabajo ha sido financiado por los proyectos de DGA-FSE T51_17R y UZ2018-BIO-01, por lo cual agradezco su colaboración.

RESUMEN

Blastocystis spp. es un protozoo anaerobio que presenta una distribución mundial. Es considerado como uno de los parásitos eucariotas que más frecuentemente se encuentra en las muestras de heces humanas, pero no ha sido sino hasta las últimas décadas que se ha demostrado que *Blastocystis* es un protozoo, aunque tan solo en los últimos años es cuando se empieza a conocer de manera más detallada la biología de este microorganismo. Se describe que presenta frecuencias más altas en países en vías de desarrollo, probablemente esto indica que la transmisión está asociada con la falta de higiene, la exposición de los animales y el consumo de alimentos o agua contaminados.

Existe una considerable controversia sobre si se trata de un organismo comensal o de un verdadero patógeno por lo que se ha planteado determinar si existe relación entre la cuantificación de *Blastocystis* spp. (≥ 5 parásitos /campo o < 5 parásitos /campo) con la sintomatología que produce, con las posibles vías de transmisión y si dicho criterio tiene aplicación clínica real. Con este fin, se realizó, partiendo de revisión de historias clínicas médicas, un estudio de tipo transversal en el que se seleccionaron, mediante la prueba de Chi-cuadrado, las variables que podían constituir los modelos de regresión logística que ayudasen a responder a los objetivos planteados. Los resultados mostraron una relación significativa con un número mayor de 5 *Blastocystis* spp. por campo con la edad de los pacientes, el presentar dolor de tórax como síntoma clínico, el haber acudido a una visita médica, el presentar diabetes mellitus tipo 2 como comorbilidad asociada y el número días de tratamiento. Las tasas de infección de este parásito fueron más altas en las zonas de Ejea de los Caballeros, Tarazona y el Barrio Oliver en Zaragoza capital. No se encontraron diferencias significativas entre la distancia con el tiempo en que se tomaron las muestras de heces y la cuantificación por campo.

Este trabajo, pone de manifiesto la importancia de una educación higiénica adecuada, que proteja a la población, en la medida de lo posible, de los riesgos asociados a dicha parasitación y, además de la necesidad de estudios futuros que permitan determinar el papel que juega *Blastocystis* spp. en las patologías digestivas.

Palabras Clave: Epidemiología, *Blastocystis* spp., Cuantificación, Aragón

ABSTRACT

Blastocystis spp. it is an anaerobic protozoan that has a worldwide distribution. It is considered one of the most frequently eukaryotic parasites found in human stool samples, but it has not been until the last decades that *Blastocystis* spp. has been shown to be a protozoan, although it is only in recent years that it has been known the biology of this microorganism in a in more detailed way. It is described that frequency is higher in developing countries, probably indicating that the transmission is associated with lack of hygiene, exposure of animals and the consumption of contaminated food or water. There is considerable controversy about whether it is a commensal organism or a true pathogen, so it has been proposed to determine if there is a relationship between the quantification of *Blastocystis* spp. (> 5 parasites / field or <5 parasites / field) with the symptom that it produces, with the possible transmission routes and if these criteria has real clinical application. Therefore, a cross-sectional study was being done, based on the review of medical records, in which the variables that could be used in logistic regression models to help respond to the variables were selected using the Chi-square test that were proposed in the objective. The results showed a significant relationship with a greater number of 5 *Blastocystis* spp. by field with the age of the patients, presenting chest pain as a clinical symptom, having attended a medical visit, presenting type 2 diabetes mellitus as an associated comorbidity and the number of days of treatment. The rates of infection of this parasite were higher in the areas of Ejea de los Caballeros, Tarazona and Oliver in Zaragoza capital. No significant differences were found between the time distances in which the stool samples were taken comparing with the quantification of the parasite by field. This study, highlights the importance of an adequate hygiene education, which protects the population, as far as possible, the risks associated with the acquisition of parasitic diseases, also the need for future studies to determine the role played by *Blastocystis* spp. in digestive pathology.

Key words: Epidemiology, *Blastocystis* spp., Quantification, Aragón

ÍNDICE

Introducción	1
Justificación y Objetivos	6
Material y método	8
Resultados	12
Discusión	20
Conclusiones	26
Referencias bibliográficas	27
Anexos	31

1. INTRODUCCIÓN

Blastocystis spp. es un protozoo anaerobio que se encuentran en el tracto gastrointestinal humano (1). Descubierta en 1911, durante muchos años fue considerado una levadura, después un protozoo cercano a los flagelados y posteriormente cercano a las amebas.

Estudios realizados en las últimas décadas han demostrado que *Blastocystis* ssp. es un protozoo, aunque ha sido en la última década cuando se empieza a conocer de manera más detallada la biología de este microorganismo (1). Gracias a las investigaciones recientes basadas en el estudio filogenético del SSU-rADN (gen que codifica para el ARN de la subunidad pequeña del ribosoma), a este protozoo se le ha ubicado dentro del dominio *Eukaryota*, Reino *Chromista*, subreino *Chromobiota*, infrarreino *Heterokonta* o *Stramenopiles*, subfilo *Opalinata*, clase *Blastocystea*, orden *Blastocystida*, género *Blastocystis* (2).

Blastocystis spp. es uno de los parásitos eucariotas más frecuentemente encontrado en heces humanas, tanto que existe una considerable controversia sobre si se trata de un organismo comensal o de un verdadero patógeno (3, 4).

Coloniza el colon y el ciego de niños y adultos. Su modo de transmisión no se conoce completamente, habiendo sido postulada la transmisión feco-oral y algunos autores también han sugerido que el agua contaminada puede ser una fuente de infección (3).

Este parásito presenta distribución mundial (5), con frecuencias más alta en los países en vías de desarrollo que en los países desarrollados (30 a 50% frente a 5 a 10%, respectivamente): Brasil (40%), Argentina (27,7%), Cuba (38,5%), Indonesia (60%) y Egipto (33%), en cambio en un estudio de Canadá, el 8% de las muestras de heces enviadas a un laboratorio de referencia dieron positivo para *Blastocystis* spp (5). En un estudio de Senegal, el 100% de 93 muestras de heces fueron positivas para *Blastocystis* spp., (6). Probablemente, esto indica que la transmisión está asociada con la falta de higiene, la exposición de los animales y el consumo de alimentos o agua contaminados.

Blastocystis spp. tiene una gran variabilidad morfológica, con un tamaño que varía entre 5 y 40 μm . Carece de pared celular, pero tiene citoplasma con orgánulos típicos de los microorganismos eucariotas como ribosoma, mitocondria, aparato de Golgi y retículo endoplásmico, que suele ser típico de los protozoos. Su genoma mitocondrial está formado por ADN circular que codifica proteínas mitocondriales y que esta conservado en los subtipos (ST) (7).

Al ser un parásito pleomórfico, presenta 6 formas que varían en tamaño, estructura y lugar de ocurrencia. Las 4 formas principales son la vacuolar, la granular, la ameboide y la quística. También presenta 2 formas menos frecuentes: multivacuolar y avacuolar (8).

- *Forma vacuolar*: Es la forma que se observa con mayor frecuencia en las heces de pacientes infectados y en el diagnóstico microscópico. Mide de 5 a 15 μm , presenta una gran vacuola central y de 1 o 4 núcleos dispuestos en la periferia (9).

- *Forma granular*: Mide entre 6 y 8 μm , contiene de 1 a 4 núcleos y presenta dentro del citoplasma y en la vacuola gránulos. Varios autores sugieren que esta podría surgir de la forma vacuolar (10).

- *Forma ameboide*: Mide entre 3 y 8 μm , esta forma posee una morfología irregular con pseudópodos, citoplasma vacuolas y núcleos. Es probable que esta forma se asocie con la enfermedad clínica del paciente y que se encuentre en cultivos viejos o que fueron tratados con antibióticos previamente (11, 12).

- *Forma quística*: Mide entre 3 y 10 μm . Los quistes pueden ser esféricos u ovoides, y a diferencia de las otras formas, está rodeada de una pared celular multilaminar. Igual que el resto de formas, contiene múltiples núcleos, de 1 a 4 (6).

- *Formas multivacuolar y avacuolar*: Miden alrededor de 8 μm , poseen de 1 a 2 núcleos y carecen de cápsula. Algunos autores sugieren que se trata de fases intermedias (11) y que probablemente estas son las formas que predominan *in vivo* (8).

El ciclo de vida de *Blastocystis* spp. (Anexo A.1) no se conoce con exactitud, sin embargo, probablemente la forma quística sea la forma infectante del parásito ya que es capaz de sobrevivir durante un mes a temperatura ambiente y 2 meses a 4°C; no obstante, es sensible a las temperaturas extremas y a los desinfectantes comunes (7).

Como se explica anteriormente, la infección puede ser adquirida por varias vías como la vía fecal-oral, por consumo de agua o alimentos contaminados, manos sucias o contacto con animales infectados. El desenquistamiento se produce en el intestino grueso del hospedador; en este proceso se libera la forma vacuolar, que se divide por fisión binaria y posee la capacidad de transformarse en cualquiera de las otras formas parasitarias. En el colon, la forma vacuolar da origen al quiste, que se elimina con las heces. La presencia frecuente de las formas ameboide, avacuolar y multivacuolar en pacientes con diarrea indicaría que estas podrían desempeñar un papel importante en la patogenia (7).

La investigación sobre *Blastocystis* spp. se ha incrementado en la última década, no obstante, su papel patogénico continúa siendo controvertido. Este parásito se ha identificado en individuos sintomáticos y asintomáticos. La mayoría de estudios de patogenicidad de este parásito se han realizado *in vitro*, observándose diferentes mecanismos que incluyen: apoptosis y degradación de proteínas de unión. Ambos mecanismos producen un aumento de la permeabilidad celular e intestinal, además de efectos inmunomoduladores (13), pero no se han detectado factores de virulencia como flagelos. Es importante mencionar que *Blastocystis* spp. posee una gran diversidad genética (14). Se describen al menos 17 subtipos diferentes, de los cuales al menos 9 se han identificado en humanos.

Es posible que la virulencia del parásito se encuentre relacionada con el subtipo del parásito. El subtipo que se encuentra con mayor frecuencia en pacientes sintomáticos es el ST3 (15), seguido por los subtipos ST1, ST2 y ST4 (16).

La virulencia variable de este protozoo unido con la heterogeneidad de las cepas, podrían explicar las diferencias en la patogenicidad. Sin embargo, la evidencia no es concluyente; la mayoría de los estudios no muestran esta correlación definida entre el subtipo o los genotipos y la patogenicidad (17), por lo que sugieren que el subtipo no es el único factor de patogenicidad (7). Se ha sugerido que el subtipo 1 y quizás el subtipo 3 tienen más probabilidades de estar asociados con sintomatología de los pacientes, aunque el subtipo 3 no siempre se asocian con la infección sintomática (10, 18).

En un intento por definir cuándo *Blastocystis* spp. es patógeno, se ha sugerido que si se detectan en más de 5 organismos por campo de inmersión en aceite, sea probablemente más patógeno que si se detectase en cantidades menores. Sin embargo, los estudios realizados no han sido capaces de encontrar esta asociación entre concentración de parásitos y los síntomas (19).

Generalmente, los síntomas que se presentan son síntomas gastrointestinales tales como diarrea aguda o crónica, náuseas, anorexia, dolor abdominal, flatulencia, y fatiga, pero no presentan fiebre. En algunos estudios se ha identificado un posible vínculo entre *Blastocystis* spp. y el síndrome del intestino irritable (SII), los hallazgos han sido inconsistentes entre los estudios y no se ha demostrado una relación causal (20, 21). En un metanálisis realizado en el 2014, se investigó si la colonización de este microorganismos podría vincularse con el SII, encontrando que los pacientes con SII tenían un riesgo relativo de infección por *Blastocystis hominis* 2,3 veces mayor que los que no lo padecen (22). Otras manifestaciones asociadas a la infección gastrointestinal por este parásito incluyen hemorragia rectal, leucocitos en heces, eosinofilia, hepatomegalia, esplenomegalia, rash cutáneo, angioedema, y prurito (23). Se ha estudiado también la asociación de *Blastocystis* spp. con urticaria aguda y crónica observando una probable relación (24, 25).

Existen pocos estudios que sugieren la infección extraintestinal de este patógeno, como ejemplo, se ha publicado un caso en el que se identificó a este organismo en líquido sinovial, lo que implicaría que la diseminación de la infección es posible (23).

Además, parece ser que pueden existir infecciones asintomáticas, por lo que el estadio de portador es posible. Sin embargo, esto no descarta su patogenicidad y se piensa que posiblemente los individuos con inmunidad previa sean más propensos a una infección asintomática. Esto implica que su rol patógeno dependerá de factores del huésped y de su inmunidad (24), aunque se han descrito síntomas en pacientes inmunocompetentes e inmunocomprometidos, incluyendo pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y pacientes trasplantados (23).

Por lo general, en las muestras de heces se suele identificar a más de un patógeno intestinal, incluyendo parásitos, bacterias y virus. Esto hace que sea mucho más complicado el asignar la sintomatología a alguno de los patógenos, por lo que termina asignándose a aquellos de patogenia ya conocida, que no suele ser *Blastocystis* spp. No obstante, la gran cantidad de casos observados en los últimos años, ha hecho que la sintomatología causada por *Blastocystis* spp. haya despertado un gran interés como tema de estudio por el desconocimiento que existe sobre este parásito (14).

En un estudio realizado en Hungría, sobre un grupo de 80 pacientes con diagnóstico positivo para *Blastocystis* spp., se identificó que el síntoma más frecuente fue el dolor abdominal (50%), además de sangre en heces (13,6%), meteorismo, pérdida de peso, manifestaciones cutáneas y prurito (26).

La sintomatología causada por este parásito es inespecífica, además el cuadro clínico es similar al que presentan los pacientes con co-infecciones por otros patógenos lo cual hace más difícil el diagnóstico exacto (27).

En un estudio realizado en Sydney en el año 2012, con 91 muestras de heces positivas para este parásito, el 22% presentó co-infección con otro microorganismo siendo más común la co-infección con otros protozoarios como *Giardia lamblia*, *Dientamoeba fragilis* y *Endolimax nana* y con bacterias como *Campylobacter jejuni*. En menor proporción se aislaron *Entamoeba coli*, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Shigella flexneri*, *Cryptosporidium* sp. y *Clostridium difficile* (28).

En otra investigación realizada en Zambia en el año 2005, se aisló *Blastocystis* spp. y *Endolimax nana* simultáneamente en 43% de las 93 muestras analizadas. No se encontró relación con otros patógenos (29).

En el diagnóstico de *Blastocystis* spp., la anamnesis clínico-epidemiológica es importante. Se debe tener en cuenta el diagnóstico diferencial con enfermedades similares debido a que los signos y síntomas de la infección no son patognomónicos.

Microbiológicamente el diagnóstico se realiza mediante observación al microscopio óptico de los parásitos presentes en la concentración de heces. La observación puede ser directa en fresco con lugol, teñidos con Giemsa o con tinción tricrómica (30). El “gold estándar” para la detección de este protozoo es el cultivo en medio axénico ya que es más sensible que la visualización microscópica, sin embargo, requiere mucho tiempo y no está disponible en todos los laboratorios. Actualmente, la PCR es una herramienta rápida y muy sensible para su identificación, además detecta variantes genéticas, si se combina la amplificación por PCR del gen SSUrRNA con secuenciación para identificación de subtipos (31, 32).

Según la mayoría de estudios, los pacientes asintomáticos con diagnóstico positivo para *Blastocystis* spp. no requieren tratamiento farmacológico (33). Sin embargo, a los

pacientes con sintomatología clínica se les debe descartar otra causa probable de infección u otra causa no infecciosa para su manejo terapéutico. Adicionalmente, esta infección puede ser autolimitada, por lo que dificulta la evaluación de la eficacia terapéutica.

Los fármacos que se utilizan en la práctica clínica son: metronidazol, tinidazol, iodoquinol, trimetropin-sulfametoxazol y furazolidona, con buena eficacia según se ha mostrado en estudios *in vitro*. El metronidazol es el tratamiento de elección con una dosis de 250 a 750 mg cada 8 horas por 5 a 10 días (33).

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El gran desconocimiento existente acerca de este parásito y su amplia distribución, hacen que se le considere como protozoo comensal, asumiendo su participación en la patología clínica del paciente solamente en aquellos casos en que la carga parasitaria es elevada (> 5 parásitos /campo), por lo que ha existido un debate significativo sobre si *Blastocystis* spp. es un comensal intestinal o es un patógeno, sin tener conclusiones claras (1, 4).

Estudios recientes resaltan el potencial patógeno de este parásito, pero se necesitan más datos antes de que *Blastocystis* spp. se pueda clasificar como un patógeno humano. Aunque el resultado clínico de la infección es multifactorial e implica huésped y factores del parásito, una de las prioridades de investigación es identificar si *Blastocystis* spp. es patógeno o no.

Además, existen pocos estudios dirigidos a investigar la epidemiología de este protozoo y a pesar de que se ha sugerido, que si se detectan en más de 5 organismos por campo sea probablemente más patógeno que si se detectase en menos de 5 organismos por campo, no están claras las diferencias epidemiológicas y clínicas en los pacientes con diferente cuantificación de *Blastocystis* spp. por campo (≥ 5 parásitos /campo o < 5 parásitos /campo), lo que incita a profundizar en el análisis de si dicha partición es de utilidad en la práctica clínica diaria.

También cabe mencionar que este trabajo fin de master aportará información sobre la situación de *Blastocystis* spp. en el área de salud III de Zaragoza, hasta el momento totalmente desconocida, que servirá de inicio de una futura tesis doctoral.

Objetivos

General

El objetivo de este trabajo es determinar si existe relación entre la cuantificación de *Blastocystis* spp. (≥ 5 parásitos /campo o < 5 parásitos /campo) con la sintomatología que produce, con las posibles vías de transmisión y si dicho criterio tiene aplicación clínica real.

Específicos

1. Analizar si existe asociación entre la cantidad de parásitos excretados en heces y las características sociodemográficas, la clínica manifestada y las características endógenas y exógenas de los pacientes.
2. Evaluar si la distribución de las personas infectadas por este parásito es homogénea en todos los Centros de Salud que forman parte del Área de Salud III de Zaragoza.
3. Evaluar si existe una excreción constante de *Blastocystis* spp. en lo que, a cantidad de parásitos por campo, hallado en las muestras.

4. Evaluar si existe relación entre la distancia temporal en que se repite el análisis de heces y el número de *Blastocystis* spp. por campo hallado en las muestras

3. MATERIAL Y MÉTODO

Se trata de un estudio de casos de tipo transversal. Durante un año, desde el 1 de junio de 2017 hasta el 31 mayo de 2018 se recogieron los datos de las historias clínicas correspondientes a todos los pacientes diagnosticados de parasitación por *Blastocystis* spp., en el servicio de Microbiología y Parasitología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza - España.

A través del programa informático de laboratorio Modulab® Werfen Gold versión 2.0, se seleccionaron las 473 peticiones que resultaron ser positivas para *Blastocystis* spp. Tras el análisis de cada una de las historias clínicas electrónicas de estos pacientes, a través del programa electrónico Intranet (web del Servicio Aragonés de Salud), se excluyeron 56 pacientes por tener una historia clínica incompleta y 80 por tener peticiones duplicadas, por lo que el número total de pacientes con que se realizó el estudio fue de 337.

Criterios de inclusión: Todos los pacientes que, desde 1 de junio de 2017 hasta el 31 mayo de 2018, que se hayan sido diagnosticados de parasitación por *Blastocystis* spp., en el Servicio de Microbiología y Parasitología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza - España.

Criterios de exclusión: Se excluyeron aquellos pacientes con historia clínica incompleta y a las todas peticiones duplicadas que se realizaron de un mismo paciente.

a. Variables de estudio

La base de datos con la que se ha trabajado en el presente estudio, consta de un conjunto de variables que incluyen la información recogida durante las entrevistas y los resultados obtenidos de los análisis de heces realizado en el laboratorio durante los años 2017-2018.

Las variables del estudio son:

Variable principal:

- Cuantificación de *Blastocystis* spp., variable dicotómica, en la cual se definió si la carga parasitaria es elevada (≥ 5 parásitos /campo) o si la carga parasitaria es baja (< 5 parásitos /campo).

Variables sociodemográficas:

- Sexo: hombre, mujer

- Procedencia: (Servicio que hace la petición): Por razones de manejabilidad de los datos, para alguno de los análisis se ha estratificado en *Centros de Salud urbanos, centros de Salud rurales y hospitalizados.

- Edad: Se trató como variable cuantitativa y estratificada por grupos de edad (1 a 18 años, 19 a 45 años, 46 a 65 años, ≥ 66 años)

8 * Nota: Los Centros de Salud urbanos son: Bombarda, Delicias Norte, Delicias Sur, Miralbueno, Oliver, Univérsitas y Valdefierro. Y los centros de Salud rurales: de Alagón, Borja, Cariñena, Casetas, Ejea de los Caballeros, Épila, Gallur, Herrera de los Navarros, La Almunia de Doña Godina, María de Huerva, Sádaba, Sos del Rey Católico, Tarazona, Tauste y Utebo.

- Nacionalidad: Esta variable se estratificó en Española, Europea, Africana, Americana, Asiática.

Variables Clínicas:

- Síntomas: Variable dicotomizada en: si/no

- Número de síntomas: Esta variable se estratificó en la presencia de hasta 2 síntomas o más de 2 síntomas

- Síntomas y analítica: Se investigó la presencia de las siguientes variables: Dolor abdominal, Náuseas, Constipación, Vómito, Anorexia, Fiebre, Aerofagia, Picor Anal, Halitosis, Urticaria, Rash de piel, Dolor de tórax, Dispepsia, Diarrea aguda [si la duración es inferior a 3 semanas (18)], Diarrea crónica [si la duración es superior a 3 semanas (34)], Anemia [si la hemoglobina en sangre alcanzó niveles a 13,3 a 18 g/dl en hombres; 11,7 a 15,7 g/dl en mujeres (35)], Test de ureasa positiva [investigación de *Helicobacter pylori*], Eosinofilia Relativa [eosinófilos en sangre periférica >5% y un número de eosinófilos totales inferior a 450/ μ L], Eosinofilia Absoluta [número total de eosinófilos circulantes en sangre periférica superior a 700/ μ L (36)]. Todas ellas de respuesta dicotómica si/no.

- Reinfeción: El paciente ha tenido o no reinfeción por *Blastocystis* spp., dicotomizada en: si/no

- Número de visitas médicas: Se contabilizó si el paciente tuvo una visita médica o más de una visita.

- Duración de los síntomas: Se trató como variable cuantitativa y estratificada (1 a 30 días, 31 a 90 días, 91 a 120 días, 121 a 180 días, 181 a 210 días, 211 a 365 días y \geq 365 días).

Variables exógenas y endógenas

- Inmunidad: Paciente inmunodeprimido o inmunocompetente.

- Tratamiento Inmunosupresor: Variable dicotomizada: si/no:

- Comorbilidad: Se investigó la presencia de las siguientes variables: Hipertensión Arterial [si TAS \geq 130 mmHg y TAD \geq 80 mmHg (37)], diabetes mellitus tipo 2: [hemoglobina glicosilada A1C \geq 6,5%, o, analítica \geq 126 mg/dL tras 8 horas de ayuno, o, glucosa plasmática de 2 horas \geq 200 mg/dL] y no si no supera las cifras mencionadas (38), pérdida de peso, celiaquía, síndrome de intestino irritable, virus de la inmunodeficiencia humana, virus Papiloma, tipo de cáncer como hematológico, nasal, colónico y cérvix. Fueron variables dicotomizadas: si/no.

- Co-infección: Se investigó la infección por protozoos intestinales en cuyas muestras de heces se identificó cualquiera de los siguientes protozoos: *Dientamoeba*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba*, *Giardia lamblia*, además infección por bacterias

intestinales en cuyas muestras de heces se identificó cualquiera de las siguientes bacterias intestinales: *Aeromonas*, *Campilobacter*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shiguelia*, *Yersinia*, también se investigó infección por helmintos en cuyas muestras de heces se identificó: *Enterobius*, *Hymenolepsis*. Todas fueron variables dicotomizadas: si/no.

- Medicación administrada: Variable categorizada: no administra, no registrada, metronidazol, antiparasitario, antibiótico, antiemético, antihistamínico, otros (suero oral paracetamol, omeprazol).

- Número de días de administración de medicación: Variable cuantitativa.

Toda la información recogida se trató conforme a lo establecido en la Ley Orgánica 15/99, de protección de datos de carácter personal. Con la autorización del jefe de servicio, la autorización de la dirección médica y de docencia del hospital y del CEICA (Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón) (Anexo B).

Análisis estadístico

En primer lugar, se procedió a la verificación de la coherencia y a la depuración de la base de datos y de las variables generadas para la realización del presente trabajo.

Para la descripción de las variables cuantitativas se determinaron la media, la desviación estándar o la mediana y el recorrido intercuartílico, según las distribuciones siguieran distribución de probabilidad normal o no. Para la descripción de las variables categóricas se utilizaron la frecuencia absoluta y relativa. El test de normalidad utilizado fue el de Kolmogorov-Smirnov o Shapiro Wilk según se tratará de muestras mayores o menores de 50 casos.

Para analizar la relación entre la variable "cuantificación de *Blastocystis* spp. y el resto de las variables cualitativas, se utilizó, la prueba de Chi-cuadrado, con la corrección de Fisher en caso de tablas 2x2 y celdas poco ocupadas. Además, para valorar entre que categorías de las variables existía relación, se analizaron los residuales tipificados de Haberman (39) utilizando la corrección de Bonferroni, en caso de que las tablas que no fueron de 2x2.

Para analizar la relación entre la variable principal "cuantificación de *Blastocystis* spp. y las variables cuantitativas, se utilizó la prueba paramétrica t-Student para las variables que seguían una distribución normal y la No paramétrica U Mann-Whitney para las variables que no seguían una distribución normal.

Con las variables que mostraron una relación importante ($p < 0,10$) con la variable principal, se realizó un modelo de regresión logística por pasos con eliminación hacia atrás, eliminando en cada paso las variables que no resultaban significativas en el test de Wald. Estos modelos se utilizaron también para detectar la existencia de interacción entre las variables que actuaban como independientes y/o si alguna de ellas actuaba como confusora.

Para controlar la colinealidad se exigió que no existiera alta correlación entre las variables independientes medida a través del coeficiente de contingencia y que el valor de inflación de la varianza (VIF) del modelo fuera inferior a cinco (40). La bondad del ajuste de los modelos finales se valoró mediante el test de Hosmer-Lemeshow.

El nivel de significación se fijó en $p < 0,05$. Se utilizó el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) Versión 24.0, para analizar los datos y el Programa para Análisis Epidemiológico de Datos Tabulados (Epidat) Versión 3.1.

4. RESULTADOS

En el año de estudio se recibieron 19,191 peticiones de coprocultivos, de las cuales 5,535 fueron peticiones para investigación de parásitos y 473 (8,5%) peticiones resultaron positivas para *Blastocystis* spp. Tras la eliminación de los que no cumplían los criterios de inclusión, 337 pacientes formaron parte de este estudio, 281 pertenecían al Área de Salud III, 49 eran pacientes hospitalizados del Hospital Clínico Lozano Blesa y 7 pacientes procedían del área de salud del Hospital Miguel Servet de Zaragoza.

De los 337 pacientes, 180 (53,41%) presentaron ≤ 5 *Blastocystis* por campo y 157 (46,58%) más de 5 *Blastocystis* por campo.

En la Tabla 4.1 se describen las características sociodemográficas de la población objeto de estudio, así como los resultados de la posible relación entre estas características y la cuantificación de *Blastocystis* spp.

Tabla 4.1 Relación entre las características socio demográfica y cuantificación de *Blastocystis* spp. por campo.

Variables	≤ 5 B/campo Nº (%)	> 5 B/campo Nº (%)	χ^2	p	Total Nº (%)
Sexo					
Hombre	105 (58,3)	77 (49,0)	2,913	0,088	182 (54,0)
Mujer	75 (41,7)	80 (51,0)			
Procedencia					
CS Urbano	80 (44,4)	56 (35,7)	3,921	0,141	136 (40,4)
CS rural	79 (43,9)	73 (46,5)			
Hospitalización	21 (11,7)	28 (17,8)			
Edad					
1 a 18 años	97 (53,9)	69 (43,9)	4,639	0,200	166 (49,3)
19 a 45 años	45 (25,0)	40 (25,5)			
46 a 65 años	25 (13,9)	32 (20,4)			
≥ 66 años	13 (7,2)	16 (10,2)			
Nacionalidad					
Española	121 (67,2)	107 (68,2)	4,188	0,381	228 (67,7)
Europea	17 (9,4)	17 (10,8)			
Africana	27 (15,0)	23 (14,6)			
Americana	8 (4,4)	9 (5,7)			
Asiática	7 (3,9)	1 (0,6)			
	Media (DS) Mediana (RI)	Media (DS) Mediana (RI)	U MW	p	Media (DS) Mediana (RI)
Edad	26,63 (23,0) 15,50 (30,0)	32,20 (24,0) 27,00 (44,0)	12166,5	0,028	28,06 (23,2) 19,00 (37,0)

DS: Desviación Estándar, RI: Rango Intercuartílico, UMW: U de Mann Whitney

Como puede verse en la Tabla 4.1 la mayoría de los pacientes fueron hombres (54%), procedían de centros de salud rurales (45,1%), la nacionalidad era española (67,7%) y prácticamente la mitad (49,3%) tenían menos de 18 años, siendo la edad media de 28,06 \pm 23,2 años y la mediana de 19 (RI= 37) años, teniendo el paciente más joven 1 año y el más anciano 93 años.

Al relacionar las variables sociodemográficas con el número de *Blastocystis* spp. por campo encontrados en el análisis de heces (Tabla 4.1) se observó que la edad de los que presentan más de 5 *Blastocystis* spp. por campo (Mediana = 27; RI = 44) es significativamente mayor ($p= 0,028$) que la edad de los que tienen menos de 5 *Blastocystis* spp. por campo (Mediana= 15,5; RI = 30). Son las mujeres (51%) las que en proporción casi significativamente (0,088) mayor presentan más de 5 *Blastocystis* spp. por campo.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el número de *Blastocystis* spp. por campo y el resto de las variables demográficas.

En la tabla 4.2 se muestra la descripción de síntomas encontrados en la población objeto de estudio, así como su relación con la cantidad de *Blastocystis* spp.

Respecto a la clínica presentada por los pacientes, se observó que 94,4% presentó algún síntoma clínico y la mayoría de ellos (71,8%) presentaron más de 2 síntomas, siendo el dolor abdominal (84,9%) y la diarrea crónica (25,2%) los más referidos por los pacientes. En más de una cuarta parte de los pacientes a estudio (28,2%) se detectó eosinofilia en la analítica de sangre (Tabla 4.2). En más de una cuarta parte de los pacientes a estudio (28,2%) se detectó eosinofilia absoluta en la analítica de sangre.

En la mayoría de pacientes no se diagnosticó reinfección (92,6%), el problema se resolvió con una visita médica (89,3%) y la sintomatología duró menos de 30 días (39,4%).

Al relacionar el número de *Blastocystis* spp. por campo con estas variables clínicas (Tabla 4. 2) se detectó que los pacientes a los que se les contabilizó más de 5 *Blastocystis* por campo fueron los que presentaron en proporción significativamente mayor ($p= 0,036$) dolor torácico (3,8 vs 0,6%) y casi significativamente mayor ($p=0,078$) los que refirieron padecer más de dos síntomas (76,4 vs 67,8%).

A los pacientes que se les contabilizó menos de 5 *Blastocystis* por campo se les diagnosticó en proporción significativamente mayor ($p= 0,036$) de anemia (10,6 vs 4,5%) y haber sido visitados por un médico en más de una ocasión (14,4 vs 3%, $p= 0,017$).

Tabla 4.2 Relación entre variables clínicas y cuantificación de *Blastocystis* spp. por campo.

Variables	≤ 5 B/campo Nº (%)	> 5 B/campo Nº (%)	χ^2	p	Total Nº (%)
Síntomas					
NO	12 (6,7)	7 (4,5)	0,769	0,381	19 (5,6)
SI	168 (93,3)	150 (95,5)			318 (94,4)
Nº Síntomas					
Hasta 2	58 (32,2)	37 (23,6)	3,103	0,078	95 (28,2)
Más de 2	122 (67,8)	120 (76,4)			242 (71,8)
Síntomas-Analítica*					
Dolor abdominal	149 (82,8)	137 (87,3)	1,312	0,252	286 (84,9)
Diarrea Crónica	43 (23,9)	42 (26,8)	1,557	0,459	85 (25,2)
Anemia	19 (10,6)	7 (4,5)	4,378	0,036	26 (7,7)
Urticaria	43 (23,9)	37 (23,6)	0,005	0,945	80 (23,7)
Rash Piel	35 (19,4)	31 (19,7)	0,005	0,945	66 (19,6)
Dolor tórax	1 (0,6)	6 (3,8)	4,398	0,036	7 (2,1)
Eosinofilos	52 (28,9)	43 (27,4)	0,093	0,760	95 (28,2)
Reinfección					
No	167 (92,8)	145 (92,4)	0,202	0,883	312 (92,6)
SI	13 (7,2)	12 (7,6)			25 (7,4)
Visitas médicas					
Una visita	154 (85,6)	147 (93,6)	5,731	0,017	301 (89,3)
Más de una	26 (14,4)	10 (3,0)			36 (10,7)
Duración Síntomas					
1-30 días	69 (40,6)	57 (38,0)	7,055	0,316	126 (39,4)
31-90 días	46 (27,1)	38 (25,3)			84 (26,3)
91-120 días	7 (4,1)	19 (6,7)			17 (5,3)
121-180 días	17 (10,0)	8 (5,3)			25 (7,8)
181-210 días	2 (1,2)	6 (4,0)			8 (2,5)
211-365 días	19 (11,2)	23 (15,3)			42 (13,1)
=>365 días	10 (5,9)	8 (5,3)			18 (5,6)
	Media (DS) Mediana (RI)	Media (DS) Mediana (RI)	U MW	p	Media (DS) Mediana (RI)
Duración Síntomas	142,7 (212,0) 60,00 (150,0)	145,35 (178,3) 90,0 (158,0)	12007,5	0,364	143,9 (196,6)

DS: Desviación Estándar, RI: Rango Intercuartílico, UMW: U de Mann Whitney.

*El resto de la sintomatología encontrada en estos pacientes puede verse en el Anexo C1

Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el número de *Blastocystis* por campo y los días de duración de la sintomatología, sí se observa (Tabla 4. 2) que la proporción de pacientes con menos de 5 *Blastocystis* por campo era mayor en los pacientes que relataron una duración de hasta 90 días de sintomatología

(67,7 vs 63,3%), mientras que la proporción de pacientes con más de 5 *Blastocystis* por campo era mayor en los que referían más de 90 días de sintomatología (36,6 vs 32,4%). En la tabla 4.3, se describen las características endógenas y exógenas de la población objeto de estudio y su relación con la cantidad de *Blastocystis* spp.

Tabla 4.3 Características endógenas y exógenas de pacientes positivos para *Blastocystis* spp. relacionada con la cuantificación por campo.

Variables	≤ 5 B/campo Nº (%)	> 5 B/campo Nº (%)	χ^2	p	Total Nº (%)
Inmunidad					
Deprimido	17 (44,7)	25 (49,0)	0,160	0,689	42(47,2)
Competente	21 (55,3)	26 (51,0)			
Tto					
Inmunosupresor					
NO	176 (97,8)	152 (96,8)	0,299	0,585	328 (97,3)
SI	4 (2,2)	5 (3,2)			
Comorbilidad *					
HTA	11 (6,1)	16 (10,2)	1,894	0,169	27 (8,0)
DM	4 (2,2)	12 (7,6)	5,449	0,020	16 (4,7)
Bajo peso	16 (8,9)	18 (11,5)	0,613	0,433	34 (10,1)
Celiaquia	16 (8,9)	8 (5,0)	0,038	0,845	24 (7,0)
SII	3 (1,7)	7 (4,5)	2,270	0,132	10 (3,0)
VIH	3 (1,7)	4 (2,5)	0,320	0,572	7 (2,1)
Co-infección**					
<i>Gardia lamblia</i>	7 (3,9)	7 (4,5)	0,068	0,794	14 (4,2)
<i>E. coli</i>	0 (0,0)	2 (0,6)	2,307	0,129	2 (0,6)
<i>Yersinia</i>	0 (0,0)	1 (0,6)	1,150	0,284	1 (0,6)
<i>Cryptosporidium</i>	0 (0,0)	2 (1,3)	2,307	0,129	2 (0,6)
<i>Entamoeba</i>	1 (0,6)	3 (1,9)	1,313	0,252	4 (1,2)
<i>H.pylori</i>	6 (3,3)	7 (4,5)	0,286	0,593	13 (3,9)
<i>Dientamoeba</i>	5 (2,8)	3 (1,9)	0,272	0,602	8 (2,4)
Medicación					
No administra	5 (2,8)	5 (3,2)	10,894	0,143	10 (3,0)
No registrada	30 (16,7)	22 (14,0)			
Metronidazol	58 (32,2)	67 (42,7)			
Antiparasitario	11 (6,1)	6 (3,8)			
Antibiótico	8 (4,4)	8 (5,1)			
Antiemético	2 (1,1)	7 (4,5)			
Antihistamínico	1 (0,6)	2 (1,3)			
Otros	65 (36,0)	40 (25,5)			
	Media (DS)	Media (DS)	U Mann	p	Media (DS)
	Mediana (RI)	Mediana (RI)	Whitney		Mediana (RI)
Días Tto	6,08 (3,5)	6,42 (2,8)	12166,5	0,028	6,22 (3,2)
	7,00 (4,0)	7,00 (4,0)			7,00 (4,0)

HTA: Hipertensión arterial, DM: Diabetes mellitus, SII: Síndrome de intestino irritable, VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana. DS: Desviación Estándar, RI: Rango Intercuartílico, UMW: U de Mann Whitney. *Los porcentajes obtenidos de los resultados de las variables dicotomizadas "Comorbilidad" representan a cada variable individualmente. **El resto de los patógenos asociados en estos pacientes puede verse en el Anexo C2.

Respecto a las características endógenas y exógenas de los pacientes (Tabla 4. 3) más de la mitad de los pacientes eran inmunocompetentes (52,8%), y además se coinfectaron con *Gardia lamblia* (4,2%). A la mayoría de pacientes se les administró como tratamiento metronidazol (37,1%), y otros medicamentos (suero oral, paracetamol, omeprazol) (31,2%).

Al relacionar el número de *Blastocystis* spp. por campo con estas características endógenas y exógenas de los pacientes (Tabla 4.3) se observó que los pacientes que presentaban más de 5 *Blastocystis* spp. por campo presentaron en proporción significativamente mayor ($p=0,020$) Diabetes mellitus tipo 2 (7,6 vs 2,2%).

Por último, los días de tratamiento administrado en pacientes con más de 5 *Blastocystis* por campo resultó significativamente mayor ($p= 0,028$) que en los pacientes que presentaban menos de 5 *Blastocystis* por campo en heces (Mediana = 7,0; RI =4).

Tabla 4.4 Factores de riesgo para la infección por *Blastocystis* spp. mediante modelos de regresión logística

Variable dependiente	Variables Independientes	OR	IC 95%
B/campo	No anemia	2,55	1,03-6,33
	Una visita médica	2,46	1,14-5,32
	Diabetes tipo 2	3,57	1,11-11,44

OR: Odds Ratio, IC: Intervalo de confianza

Como se observa en la tabla 4.4, la Odds de cuantificar más de 5 *Blastocystis* spp. por campo es de 2,55 (IC 95% 1,03 - 6,33); 2,46 (IC 95% 1,14 - 5,32) y 3,57 (IC 95% 1,11 - 11,44) veces superior entre los pacientes que no tenían anemia, que acuden a una única visita médica y que padecen de diabetes mellitus tipo 2, respectivamente,

La distribución, según los Centros de Salud de procedencia, de los 281 pacientes del Área de Salud III de Zaragoza que tuvieron un resultado positivo para *Blastocystis* spp. puede verse en la tabla 4.5.

Tabla 4.5 Tasa de infección de los Centros Tasas de Centros de Salud de Área de Salud III de Zaragoza.

Zona salud	Población	Varones	Mujeres	Nºpacientes (%)	Tasa de Infección
Alagón	14 953	7 687	7266	11 (3,9)	7x10 ⁴
Borja	10 862	5622	5240	2 (0,7)	1,8x10 ⁴
Cariñena	8 839	4 727	4 112	6 (2,1)	6,7x10 ⁴
Casetas	13 136	6 718	6 418	13 (4,6)	9,8 x10 ⁴
Ejea de los Caballeros	17 441	9 084	8 357	33 (11,7)	18,9 x10 ⁴
Épila	10 214	5 339	4 875	4 (1,42)	3,9 x10 ⁴
Gallur	8 602	4 465	4 137	0	-----
Herrera de los Navarros	1 463	800	663	0	-----
La Almunia de Doña Godina	14 454	7 626	6 828	18 (6,4)	1,2 x10 ⁴
María de Huerva	13 254	7 017	6 237	19 (6,8)	14,3x10 ⁴
Sádaba	4 538	2 324	2 214	1 (0,4)	2,2 x10 ⁴
Sos del Rey Católico	1 090	589	501	0	-----
Tarazona	14 596	7 303	7 293	25 (8,9)	17,1 x10 ⁴
Tauste	8 769	4 426	4 343	6 (2,1)	6,8 x10 ⁴
Utebo	17 809	9 082	8 727	5 (1,8)	2,8 x10 ⁴
Bombarda	16 010	7 824	8 186	15 (5,3)	9,3 x10 ⁴
Delicias Norte	25 005	12 066	12 939	28 (9,9)	11,1 x10 ⁴
Delicias Sur	24 286	11 654	12 632	18 (6,4)	7,4 x10 ⁴
Miralbueno-Garrapinillos	12 656	6 310	6 346	20 (7,1)	1,5 x10 ⁴
Oliver	13 507	6 760	6 747	21 (7,5)	15,5 x10 ⁴
Univérsitas	33 001	16 075	16 926	29 (10,3)	8,7 x10 ⁴
Valdefierro	9 407	4 750	4 657	7 (2,5)	7,5 x10 ⁴
POBLACIÓN TOTAL	293 892	148 248	145 644	281	9,5 x10⁴

Fuente: Mapa sanitario de la Comunidad de Aragón 2007 Sector de Zaragoza III (41).

Se observó que la tasa de infección para *Blastocystis* spp. fue más alta en los siguientes centros de salud: Ejea de los Caballeros (18,9 casos por cada 100.00 habitantes por año), Tarazona (17,1 casos por cada 100.00 habitantes por año) y Barrio Oliver (15,5 casos por cada 100.00 habitantes por año) (Anexo D.1).

La prevalencia según los datos expuestos es de 0,096%.

Análisis de las muestras repetidas de pacientes positivos para *Blastocystis* spp.

De los 337 pacientes positivos a *Blastocystis* spp., a 84 (24,9%) se les realizaron varios análisis de heces. Al realizar el análisis de las 84 muestras repetidas, se obtienen los resultados que se expresan a continuación.

Tabla 4.6 Relación entre la distancia temporal en que se repiten los análisis de heces y la cuantificación de *Blastocystis* spp. por campo.

Repetición de las muestras	≤ 5 B/campo Nº (%)	> 5 B/campo Nº (%)	Diferentes Nº (%)	χ^2	p	Total Nº (%)
1 mes o más diferencia	6 (31,5)	9 (47,3)	4 (21,0)	6,9696	0,1375	19 (22,6)
Consecutivas	15 (25,9)	16 (27,6)	27 (46,6)			58 (69,1)
Tomadas el mismo día	1 (14,3)	1 (14,3)	5 (71,4)			7 (8,3)

De los 84 pacientes a los que se les realizaron varios análisis parasitológicos de heces, a 19 (22,6%) de ellos se les realizó con al menos un mes de diferencia, a 58 (69,1%) en días consecutivos y a 7 (8,3%) en el mismo día (tabla 4.6).

De los 19 pacientes a los que se les realizó el análisis parasitológico con al menos un mes de diferencia, en la mayoría, 9 (47,3%) se contabilizaron más de 5 de *Blastocystis* por campo. Sin embargo, en los 58 pacientes, en los que se recogieron muestras consecutivas y en los 7 que se tomaron muestras el mismo día se encontró que el 46,6% y el 71,4% respectivamente, presentaban una cuantificación diferente de *Blastocystis* por campo. No se encontró una diferencia significativa entre la distancia en el tiempo en que se tomaron de muestras y la cuantificación de de *Blastocystis* por campo ($p=0,1375$).

Tabla 4.7 Relación entre el resultado obtenido en los análisis parasitológicos de heces repetidos y la distancia temporal en que se realizan.

Repetición de las muestras	Mismo Resultado Nº (%)	Diferente Resultados Nº (%)	χ^2	p	Total Nº (%)
1 mes o más diferencia	15 (78,9)	4 (21,1)	6,3452	0,0419	19 (22,6)
Consecutivas	31 (53,4)	27 (46,6)			58 (69,1)
Tomadas en el mismo día	2 (28,6)	5 (71,4)			7 (8,3)

Existe una alta proporción de resultados diferentes obtenidos en los tres subgrupos temporales en los que se ha recogido más de una muestra. Para los pacientes en que dicho análisis parasitológico de heces se les repetía con al menos un mes de diferencia, la proporción de “mismo resultado” fue significativamente mayor ($p=0,041$) que en los pacientes a los que las muestras se recogían de manera consecutiva o en el mismo día.

5. DISCUSIÓN

En los últimos años *Blastocystis* spp. ha sido estudiado con mayor interés debido a su posible papel como patógeno humano (28), pero todavía no se conoce bien la Biología del parásito, ni las características de la infección que produce.

En este estudio se ha encontrado que la prevalencia de *Blastocystis* spp. en el área III de Salud de Aragón es de 0,096%. Los estudios demuestran que la prevalencia de este parásito es muy variable debido a que puede cambiar según el contexto del estudio, las diferencias en el enfoque diagnóstico e incluso por las distintas formas morfológicas de este protozoo (42). Así, por ejemplo, se observó en un estudio realizado en Senegal que la prevalencia de *Blastocystis* spp. en el área estudiada fue del 100% (6). Frente a estos datos, la prevalencia encontrada en la zona objeto de estudio es muy baja, pero hay que tener en cuenta que puede ser más elevada si se consideran los portadores asintomáticos que pueden existir.

En este estudio se pretende determinar si realmente existe asociación entre la cuantificación de *Blastocystis* spp. y sintomatología, posibles vías de transmisión, y concretamente si el punto de corte situado en 5 *Blastocystis* spp. /campo presenta utilidad clínica o no.

Cuando se observa la población estudiada, se encuentra que hay una ligera mayoría de hombres infectados por este parásito (54%). Sin embargo, es mayor el número de mujeres (51%) que tuvieron más de 5 *Blastocystis* spp. por campo. Esto concuerda otros estudios, realizados en España y en Tailandia, en los que se encontró que el 56,5% y el 54,3% respectivamente, de los pacientes infectados por *Blastocystis* spp. fueron hombres (43, 44). Estos resultados también se han encontrado en estudios realizados con otros protozoos, y parece encontrarse asociado con los diferentes hábitos higiénicos de ambos sexos, Roka y col. mencionan en su estudio que existía una mayor transmisión de *Entamoeba histolítica* entre hombres porque son un poco menos higiénicos, mientras el hecho de que en las mujeres sea mayor el porcentaje con un recuento de más de 5 *Blastocystis* spp. por campo podría estar relacionado con las diferentes vías de transmisión del parásito, o a las actividades diarias realizadas por ellas como por ejemplo estar en contacto más cercano a los niños o animales del hogar, o incluso pensar en sus circunstancias inmunológicas (45).

Al estudiar la edad de los pacientes infectados, se observó que la media de edad encontrada fue de $28,06 \pm 23,2$ años con un rango de 1-93 años y la mediana de 19 años, encontrándose además, que la mediana de edad era significativamente mayor para los pacientes que presentan más de 5 *Blastocystis* spp. por campo (Mediana = 27; RI = 44; $p = 0,028$) en relación con la edad de los pacientes que tienen menos de 5 *Blastocystis* spp. por campo (Mediana = 15,5; RI = 30). Algo similar ocurre con otros parásitos como *Giardia* y *Cryptosporidium*, las personas más susceptibles a adquirir estas infecciones son los niños y personas jóvenes, sin duda influidos por una relajación de costumbres higiénicas que lleva a pensar en una transmisión prioritaria de persona a persona. En este trabajo también aparece un elevado número de personas mayores de 65 años, esto en principio, puede estar motivado por una mayor facilidad de colonización del parásito en personas más mayores que puedan tener algún deterioro intestinal.

En Turquía se ha realizado un estudio en el que encontraron que la distribución de infección por *Blastocystis* spp. fue más alta en niños entre 7 y 13 años (34,9%) (5). Sin embargo, existen otros estudios en los que se encontraron a pacientes con edades mayores, como se observó en Tailandia, Turquía y España que se evidenció una media y mediana de edad de 49,2 años \pm 17,8 años, 38,8 + 20,2 años y 36 años respectivamente (43, 44, 46).

Al investigar los centros de procedencia de las peticiones se observó que la proporción de *Blastocystis* spp. en centros de salud rurales es mayor, pero no muy significativa, por lo que se puede decir que no hay diferencias. Se debe tener en cuenta que los Centros de Salud incluidos en la zona de influencia del Hospital Clínico Lozano Blesa, son centros rurales en los que el ambiente está urbanizado, pero también puede sugerir que estos pacientes podrían haberse infectado por contacto con animales o por vías ambientales con las que no están en contacto las personas de áreas urbanas. Según lo mencionado, en Indonesia, se realizó un estudio por Yulfi y col., en el que encontraron que la infección por protozoos intestinales tipo *Giardia lamblia*, *Balantidium coli* y *Blastocystis* spp. era más frecuente en las zonas rurales y remotas del país, sugiriendo que la higiene personal y saneamiento ambiental, como inodoros inadecuados, falta de hábito de lavarse las manos, así como la agricultura podrían ser la causa de la diseminación de estas infecciones parasitarias (47).

Los síntomas que puede causar el parásito son muchos y variados. En este estudio se observó que un número elevado de pacientes (71,8%) presentó más de 2 síntomas gastrointestinales tipo dolor abdominal y diarrea crónica, lo que hace pensar más en un posible parásito patógeno que comensal intestinal, por la clínica crónica que se evidenció en los pacientes. Además, en el 43,2% de los pacientes se presentaron síntomas cutáneos tipo urticaria, rash de piel, además de eosinofilia, demostrando que como la mayoría de protozoos, este es un agente causal de alergias cutáneas que está mediada por la respuesta de Ig E (24). Con una diferencia significativa los pacientes que tuvieron más de 5 *Blastocystis* spp. por campo presentaron dolor de tórax, un hallazgo que puede ser explicado por un dolor reflejo abdomino-torácico. No obstante, la confirmación del papel patógeno de *Blastocystis* requiere posteriores estudios en los que se valore igualmente la presencia de portadores asintomáticos.

En la analítica se encontró que 7,7% de los pacientes presentaron anemia sin causa no filiada, por lo que podría ser debida a la infección parasitaria, ya que el 10,6% de los pacientes con anemia presentaban menos de 5 *Blastocystis* spp. por campo, pudiéndose pensar que se encuentran en el huésped provocando trastornos hematológicos tipo anemia por la necesidad del hierro y glucosa para su nutrición, sin causar la sintomatología gastrointestinal evidente que se presenta más frecuentemente en pacientes con mayor número de *Blastocystis* spp. por campo. En otro estudio de casos y controles realizado en Irán por Javaherzadeh y col., en el año 2014, encontraron que los pacientes infectados por *Blastocystis* spp. presentaron anemia en la analítica sanguínea (48). Igualmente, en Turquía, Yavasoglu y col., encontraron una diferencia significativa mayor entre los casos con anemia por deficiencia de hierro entre los pacientes infectados por *Blastocystis* spp. que entre los pacientes no infectados (49).

Kaya y col. en 2015 encontraron el dolor abdominal como síntoma más frecuente (76,9%), seguido de diarrea (50%) y distensión abdominal (32,6%) (46). Además, Qadri y

col., y Boorom y col., identificaron en sus estudios que los pacientes infectados por este parásito presentaron varios trastornos gastrointestinales como dolor abdominal, diarrea, anorexia, flatulencia, náuseas y vómitos, que también se pudieron identificar en este estudio (50, 51). Salvador y col., en su estudio, realizado en España en 2016 encontraron que con menos frecuencia (9,8%) los pacientes presentaban síntomas cutáneos tipo dermatitis eccematosa o urticarial, además, mencionan que no existían otras causas para tales síntomas y que mejoraron luego de la administración de tratamiento parasitario (43). En Aragón, se describe un caso de un paciente que presentaba dolor abdominal más eosinofilia sin otra manifestación clara. Después de todos los estudios complementarios realizados, se llegó al diagnóstico de dolor abdominal con parasitosis por *Blastocystis* spp., siendo este parásito la única causa de la enfermedad (52).

En cuanto al tiempo de sintomatología de los pacientes, en este estudio se encontró que el 60,6% de los pacientes presentaron sintomatología durante más de un mes, un 21,2% durante más de 6 meses y un 5,6% más de un año. Sin embargo, también se observó que la mayoría de pacientes acudieron a una visita médica y no presentaron reinfección por dicho parásito. Se observó además, que varios pacientes presentaron síntomas por más de un año de evolución. Pudiéndose esto explicar probablemente por que la solicitud de parásitos en heces se produce en la mayoría de los casos cuando el paciente ya lleva una larga trayectoria con síntomas. Esto implica una necesidad de incluir en los protocolos clínicos de la sospecha de parásitos ante estos síntomas tan inespecíficos, así como de mejorar la formación en parasitología del profesional sanitario para que contemple la sospecha clínica. Por otra parte, los casos en que se han producido varias visitas al médico por la misma causa, deben de ser estudiados de forma más profunda para definir si se trata de *Blastocystis* refractarios al tratamiento o de reinfección parasitaria.

Al abordar la característica endógenas y exógenas de los pacientes, en el presente estudio se observó que menos de la mitad de los pacientes eran inmunocomprometidos y que un 2,7% de los pacientes tomaban algún tipo de medicamento inmunosupresor tipo corticoides. De estos pacientes inmunocomprometidos 4,7% tuvieron diabetes mellitus tipo 2, estos pacientes tuvieron mayoritariamente recuentos de más de 5 *Blastocystis* spp. por campo, probablemente siendo la causa de la infección parasitaria. Además, se encontró que 3% de los pacientes positivos presentaron síndrome de intestino irritable dentro de sus diagnósticos clínicos. La inmunidad de los pacientes es un factor esencial para la infección parasitaria, por lo que al presentar una inmunidad comprometida facilita su infección. En Tailandia, Laodim y col., en 2012, encontraron que un gran número de pacientes positivos para *Blastocystis* spp. eran inmunocomprometidos y que además presentaban enfermedades subyacentes tanto crónicas como oncológicas, tipo diabetes mellitus, hipertensión, linfoma no Hodgkin y leucemia mieloblástica aguda (44). Otro estudio español de Salvador y col., en 2016, encontraron que el grupo de pacientes asintomáticos presentaban mayor inmunodepresión que los pacientes sintomáticos, por lo que ellos explican que no existe una amplia información aún disponible sobre este patógeno y pacientes inmunocomprometidos que debería ser estudiada en mayor profundidad (43). En los últimos años también varios estudios se han centrado en la asociación entre *Blastocystis* spp. y síndrome de intestino irritable. Giacometti y col. (1999), en Italia y Yakoob y col.

(2004), en Pakistán demostraron en sus estudios esta asociación entre *Blastocystis* spp. y el síndrome de intestino irritable, lo cual ha supuesto una nueva puerta para pensar que este parásito podría ser un protozoo patógeno más que un comensal (53, 54). En estudios posteriores como en el llevado a cabo en Francia en 2012, observaron una importante incidencia de este patógeno en individuos con síndrome de intestino respecto a población sana (55). Sin embargo, la información actual no puede concluir si este parásito es causa de síndrome de intestino irritable, o por el contrario, los pacientes con síndrome de intestino irritable son más susceptibles a la infección por el parásito. Varios factores pueden estar involucrados en la patogenicidad de este parásito, como por ejemplo, el microambiente tanto del huésped como del protozoo que debería analizarse conjuntamente ya que esta interacción puede llevar a cambios fenotípicos del parásito y a diferentes grados de virulencia, por lo que se pudiera pensar que la condición intestinal de los pacientes puede proporcionar un entorno favorable para este protozoo (56).

La coinfección por otros patógenos asociados es frecuente. En este estudio se encontró que la coinfección más frecuente fue con *Gardia lamblia* (4,2%) seguida de *Helicobacter pylori* (3,9%) y *Dientamoeba* (2,4%), sin encontrarse asociación estadística con la cuantificación de *Blastocystis* spp. por campo. En un estudio realizado por Amin en Estados Unidos en el año 2000, se observó que los pacientes pueden estar infectados al mismo tiempo con al menos de 2 a 4 parásitos intestinales (57). Así se demuestra en los estudios realizados por Kulik y col. (2008), en el que encontraron que los pacientes con *Blastocystis* spp. también tenían infección por *Endolimax nana* y *Escherichia coli* (28), y Laodim y col. (2012), que observaron que el 57,3% de los pacientes, también estaban infectados por *Strongyloides stercoralis* (57%) y *Opisthorchis viverrini* (45,6%) (44). Lo mismo ocurre, en el estudio de Salvador y col. (2016), en el que 24 de sus pacientes positivos para *Blastocystis* spp. presentaron coinfección con *Clostridium difficile*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, *Giardia duodenalis* (43).

El tratamiento farmacológico ha sido motivo de debate en muchos de los estudios actuales. En este estudio se investigó también el tratamiento que se administró a los pacientes, encontrándose que el metronidazol (37,1%) fue el fármaco prescrito con mayor frecuencia, tal como lo recomiendan las guías médicas. Además, se observó que otros medicamentos tipo suero oral, paracetamol y omeprazol (31,2%) fueron prescritos también con frecuencia en los pacientes, sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre la administración de tratamiento y la cuantificación del parásito. Lo que sí se observó fue una diferencia significativa en relación con los días de tratamiento prescrito ($p=0,028$) y la cuantificación de *Blastocystis* spp. por campo. Es importante destacar que la mayoría de estudios sugieren que se debería abstener de tratamiento a los pacientes asintomáticos y administrarlo a los pacientes con síntomas lo que podría tener relación con el hallazgo de este estudio en relación a los días de tratamiento y la cuantificación del parásito. En un ensayo controlado italiano realizado por Nigro y col. (2003), se menciona que metronidazol es el fármaco de primera línea para *Blastocystis* spp. y trimetoprima/sulfametoxazol (TMP / SMX) el fármaco de segunda línea, ellos compararon metronidazol con placebo y se obtuvo una resolución de los síntomas en un 88% de los pacientes tratados en comparación con un 14% de los pacientes que fueron manejados con placebo, además obtuvieron un 80% de erradicación del parásito

en heces en comparación al 3% del placebo (33), algo que no se pudo evaluar en este estudio, pero que queda como línea abierta para estudios futuros (33). Heyland y col., en 2012, en un hospital universitario pediátrico en Zurich, estudiaron la eficacia de (TMP / SMX) *versus* placebo, sin que se apreciase evidencia en la disminución de la intensidad de los síntomas, ni diferencias significativas en la mejora del dolor abdominal recurrente entre los pacientes con erradicación del parásito y los pacientes que no tuvieron erradicación (58), lo que sugiere que metronidazol es el fármaco de elección en pacientes sintomáticos y corrobora el hallazgo de este estudio.

De especial importancia resultó el analizar el número de pacientes positivos de acuerdo con los Centros de Salud que realizó las peticiones de análisis parasitológico de heces, pensando sobre todo en la posibilidad de comparar la infección en cada una de las zonas estudiadas como orientación para establecer una sospecha respecto a las vías de transmisión prioritarias. En el Centro de Salud de Ejea de los Caballeros se observó una tasa elevada de infección, zona que cuenta con un alto número de explotaciones ganaderas de todo tipo (ovino y caprino, porcino), lo mismo que en Tarazona. La cantidad de *Blastocystis* spp. podría estar relacionada con el inóculo inicial y si así fuera los pacientes con una mayor cantidad de parásito deberían de pertenecer a algún centro de salud determinado si las vías de transmisión hídrica o ambiental fuera prioritaria como señalan Roka y col., en su estudio (45). Como se mencionó anteriormente, las granjas y el contacto animal, probablemente podrían ser otra fuente de transmisión. Dos estudios españoles demuestran que los cerdos están también parasitados por *Blastocystis* spp. En Aragón, Quilez y col., encontraron que la prevalencia de este parásito era de 7,5% sobretodo en cerdos de 1-2 meses (18,4%) (59). Además, en Valencia, Navarro y col. obtuvieron resultados similares, encontrando que cerdos de 2 a 4 meses eran los más infectados y que en las granjas en las que se terminaba con el crecimiento de estos animales estaban altamente infectadas por este protozoo (60). No debemos de olvidar cuando consideramos esta vía de transmisión que en la actualidad, se está llevando a cabo abono de terrenos con purines de cerdo, sin tratar y tratados sin que en este último caso los procesos de tratamiento hayan sido evaluados en su eficacia frente a *Blastocystis*, *Giardia* o *Cryptosporidium*, así como frente a otros parásitos. El barrio Oliver es uno de los más desfavorecidos de Zaragoza, por lo que en este caso, la vía de transmisión más probable será la transmisión persona a persona. No obstante, existe otro factor a considerar cuando se valora la tasa de parasitación por zonas geográficas, sobre todo, si se observa que zonas de similares características y muy próximas geográficamente presentan una diferencia considerable en las tasas de parasitación. Nuevamente, este factor es la formación en parasitología del profesional sanitario que le puede permitir establecer una sospecha clínica con mayor facilidad.

Cuando se analiza la relación entre el tiempo de recogida de la muestra y la cuantificación de *Blastocystis* spp. por campo, se observa que las muestras recogidas con al menos un mes de diferencia presentaban un porcentaje mayor de 5 *Blastocystis* spp. por campo. Estas muestras podrían fácilmente corresponder a una infección masiva, y por lo tanto más difícil de erradicar. Sin embargo, en las muestras en las que se recogieron de manera consecutiva o fueron tomadas el mismo día se observó diferente cuantificación del parásito, lo que probablemente nos indicaría que esta partición de menos de 5 o más de 5 *Blastocystis* spp. por campo en el estudio parasitológico es muy dependiente del observador, de la técnica diagnóstica y del estado inmunológico del

paciente con lo que puede variar fácilmente el contaje de *Blastocytis* spp. incluso en muestras que fueron tomadas en el mismo día. No obstante, estas diferencias, podrían también ser debidas a que la excreción del parásito no se produzca de forma constante en el tiempo, por lo que el recuento en diferentes momentos puede ser diferente. Esto se debería tener en cuenta para el manejo del paciente con síntomas incluso si presenta recuentos menores de 5 *Blastocytis* spp. por campo.

Limitaciones y fortalezas

Limitaciones

Una de las principales limitaciones del estudio es el diseño. Al tratarse de un estudio de casos transversal, no se pueden establecer relaciones de causalidad entre el número de *Blastocytis* spp. /campo encontrados en el análisis de heces y las variables con las que ha relacionado.

Otra limitación importante es que solo se han estudiado las personas sintomáticas que, por no encontrarse bien, han acudido a su médico y este les ha solicitado un análisis de heces. Por lo tanto quedan excluidas del estudio todas las personas, que teniendo *Blastocytis* spp., o bien no presentan sintomatología, o bien el médico no sospecha de este tipo de infección y por lo tanto no se les ha realizado análisis de heces.

Además, el estudio se ha circunscrito a un año y al Área de Salud III de Zaragoza, lo que no nos ha permitido tampoco establecer si la distribución de esta infección se distribuye de forma similar a lo largo del tiempo y de los enfermos, por lo que los resultados no son extrapolables a la población de infectados por *Blastocytis* spp.

Por último, tener que utilizar la información registrada en las historias clínicas de los pacientes, con sus posibles carencias, errores, y sobre todo con la variabilidad de la información registrada debida a la importancia que cada profesional da a determinada información, podría influir en los resultados obtenidos.

Como fortalezas del estudio destacamos:

Se trata del primer estudio que se realiza en el área de Salud III de Zaragoza sobre la epidemiología de este parásito, que en los últimos años se ha convertido en causa de debates, por lo que aporta una información importante acerca de la situación de *Blastocytis* spp. en esta área geográfica.

Tras los resultados obtenidos en el estudio, pensamos que la cuantificación del número de parásitos por campo no debería ser utilizable como criterio para determinar si la infección por *Blastocytis* spp. Es susceptible de ser tratada o no.

6. CONCLUSIONES

1. El perfil del paciente en el que se contabilizan más de 5 *Blastocystis* por campo, corresponde a una persona joven, mujer, con dolor de tórax como síntoma clínico, diabetes mellitus tipo 2 como comorbilidad y no tiene anemia en la analítica sanguínea.
2. La distribución de las personas infectadas por este parásito no es homogénea en todos los Centros de Salud que forman parte del Área de Salud III de Zaragoza. Las mayores tasas de infección por *Blastocystis* spp. se encontraron en los Centros de Salud de Ejea de los Caballeros, Tarazona y Oliver, coincidiendo con áreas geográficas de tradición ganadera o sectores más desfavorecidos de la población, lo que habla en favor de vías de transmisión ambientales en el primer caso y por contacto de persona a persona en el último.
3. No se encontró asociación significativa entre la distancia temporal con que se habían repetido los análisis de heces y el número de *Blastocystis* spp. por campo contabilizado.
4. Cuando los análisis de heces se repiten con menos de un mes de diferencia, la probabilidad de obtener el mismo número de *Blastocystis* spp. por campo fue mayor que cuando las muestras se repetían de manera consecutiva o en el mismo día, sugiriendo que la cuantificación del número de parásitos no siempre es utilizable como criterio para administrar o no tratamiento.

Por último y como líneas de investigación futura, proponemos:

- Dada la baja prevalencia de infección por *Blastocystis* spp. encontrada en nuestro estudio al compararla con otros países, se propone como línea futura realizar un estudio a una muestra de la población general, para poder identificar no solo a enfermos sintomáticos, sino a infectados no sintomáticos y a portadores sanos y poder comprobar así la influencia de la presencia del parásito en la patología intestinal.
- Realizar estudios para todos los infectados por *Blastocystis* spp. con cuantificaciones diferentes a la única conocida hasta el momento (< 5 *Blastocystis* spp./> 5 *Blastocystis* spp.) que nos ayuden a conocer si realmente una cantidad mayor de estos parásitos determina mayor patogeneidad en el paciente.
- Debido a que posiblemente la virulencia del parásito este relacionada con el subtipo, se propone como línea futura realizar un estudio en el cual se identifique mediante biología molecular el subtipo del parásito en cada una de las muestras de heces de los pacientes infectados por *Blastocystis* spp. para determinar su frecuencia, e identificar la sintomatología clínica que produce en los pacientes.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Leder K, W. P. (5 de Diciembre de 2017). *Blastocystis* species. *Uptodate*. Recuperado el 21 de Agosto de: www.uptodate.com
2. Dagci H, K. Ö. (2014). Epidemiological and diagnostic features of *Blastocystis* Infection in symptomatic patients in Izmir province, Turkey. *Iranian Journal of Parasitology*, 519-529.
3. Zierdt, C. (1991). *Blastocystis hominis*—past and future. *Clinical Microbiology Review*, 61–79.
4. Weller P, L. K. (5 de Julio de 2016). Nonpathogenic enteric protozoa. *Uptodate*. Recuperado el 11 de Agosto de 2018 de: www.uptodate.com
5. Taylor-Orozco V, L F, A.-M.-B.R. (2016). *Blastocystis* sp: Evidencia de su rol patógeno. *Revista Biosalud*, 70-82.
6. El Safadi D, G. L. (2014). Children of Senegal River Basin show the highest prevalence of *Blastocystis* sp. ever observed worldwide. *BMC Infectious disease*, 164.
7. Del Coco V, M. N. (2017). *Blastocystis* spp.: avances, controversias y desafíos futuros. *Revista Argentina de Microbiología*, 110-118.
8. Parija S, J. S. (2013). *Blastocystis*: Taxonomy, biology and virulence. *Tropical Parasitology*, 17-25.
9. Mirza H, T. K. (2009). *Blastocystis* exhibits inter- and intra-subtype variation in cysteine protease activity. *Parasitology Research*, 355-361.
10. Tan KS, S. M. (2002). Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. *International Journal for Parasitology*, 789-804.
11. Tan, K. (2008). New Insights on Classification, Identification, and Clinical Relevance of *Blastocystis* spp. *Clinical Microbiology Reviews*, 639-665.
12. Tan TC, T. P. (2013). Genetic diversity of caprine *Blastocystis* from Peninsular Malaysia. *Parasitology Research*, 85-89.
13. Hernández A, E. E. (2012). Tipos morfológicos, número de parásitos por campo y carga parasitaria de *Blastocystis* sp proveniente de pacientes sintomáticos y asintomáticos. *Salus*, 13-16.
14. Ajjampur S, T. K. (2016). Pathogenic mechanisms in *Blastocystis* spp. – Interpreting results from in vitro and in vivo studies. *Parasitology International*, 772-779.
15. Gentekaki E, C. B. (2017). Extreme genome diversity in the hyper-prevalent parasitic eukaryote *Blastocystis*. *PLoS Biology*, 2003769.
16. Wong KH, N. G. (2008). Predominance of subtype 3 among *Blastocystis* isolates from a major hospital in Singapore. *Parasitology research*, 663-670.
17. Stensvold R, M. A.-L. (2009). Subtype distribution of *Blastocystis* isolates from synanthropic and zoo animals and identification of a new subtype. *International Journal for Parasitology*, 473-479.
18. Alinaghizade A, M. H. (2017). Inter- and intra-subtype variation of *Blastocystis* subtypes isolated from diarrheic and non-diarrheic patients in Iran. *Infection, Genetics and Evolution*, 77-82.
19. Raafat M, E.-B. M. (2017). Subtyping of *Blastocystis* sp. isolated from symptomatic and asymptomatic individuals in Makkah, Saudi Arabia. *Parasites and Vectors*, 174-180.
20. Nimri, L. F. (1993). Evidence of an epidemic of *Blastocystis hominis* infections in preschool children in northern Jordan. *Journal of Clinical Microbiology*, 2706 -2708.

21. Nagel R, T. R. (2016). Comparison of faecal microbiota in *Blastocystis*-positive and *Blastocystis* negative irritable bowel syndrome patients. *Microbiome*, 47-56.
22. Rojaleen D, S. K. (2016). Molecular Characterization and Subtyping of *Blastocystis* Species in Irritable Bowel Syndrome Patients from North India. *PLoS ONE*, 0147055.
23. Nourrisson C, S. J. (2014). *Blastocystis* Is Associated with Decrease of Fecal Microbiota Protective Bacteria: Comparative Analysis between Patients with Irritable Bowel Syndrome and Control Subjects. *PLoS ONE*, 11868.
24. Salinas J, V. H. (2007). Infección por *Blastocystis*. *Revista de Gastroenterología de Perú*, 264-274.
25. Abdel Hameed D, H. O. (2011). Association of *Blastocystis hominis* genetic subtypes with urticaria. *Parasitology Reserch*, 553–560.
26. Casero R, M. F. (2015). *Blastocystis* and urticaria: Examination of subtypes and morphotypes in an unusual clinical manifestation. *Acta Tropica*, 156-161.
27. Bálint A, D. I. (2014). o not forget the stool examination! - Cutaneous and gastrointestinal manifestations of *Blastocystis* sp. infection. *Parasitology Research*, 1585-1590.
28. Kulik R, F. D. (10 de Abril de 2018). *Blastocystis* sp. and other intestinal parasites in hemodialysis patients. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* Recuperado el 22 de Agosto de 2018 de: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702008000400017
29. Roberts T, S. D. (2014). Update on the pathogenic potential and treatment options for *Blastocystis* sp. *Gut Pathogens*, 5-9.
30. Graczyk TK, S. C. (26 de Octubre de 2005). The association of *Blastocystis hominis* and *Endolimax nana* with diarrheal stools in Zambian school-age children. *Parasitology Research*, 38-43
31. Menounosa P, S. G. (2007). Direct detection of *Blastocystis* sp. in human faecal samples and subtype assignment using single strand conformational polymorphism and sequencing. *Elsevier*, 24-29.
32. Stensvold R, S. K. (2007). Terminology for *Blastocystis* subtypes – a consensus. *Elsevier*, 93-96.
33. Nigro L, L. L. (2003). A Placebo-Controlled Treatment Trial of *Blastocystis hominis* Infection with Metronidazole. *Journal of Travel Medicine*, 128-130.
34. Balboa, A. (2005). Diarrea Aguda. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 290. Recuperado el 22 de Agosto de 2018 de *Scielo*: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082005000400009&lng=es&tlng=es.
35. OMS, O. M. (2011). *Concentraciones de hemoglobina para diagnosticar la anemia y evaluar su gravedad*. Ginebra: VMNIS. Obtenido de Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2011 (WHO/NMH/NHD/MNM/11.1)
36. Salas J, R. G. (2016). Diagnóstico y tratamiento de la eosinofilia importada en viajeros e inmigrantes: recomendaciones de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional (SEMTSI). *Revista Española de Quimioterapia Advance*, 62-78.
37. Taler S. (2018). Initial Treatment of Hypertension. *New England Journal of Medicine*, 636–644.
38. McCulloch, D. K. (27 de Marzo de 2017). Clinical presentation and diagnosis of diabetes mellitus in adults. Obtenido el 26 de Agosto de *Uptodate*: www.uptodate.com

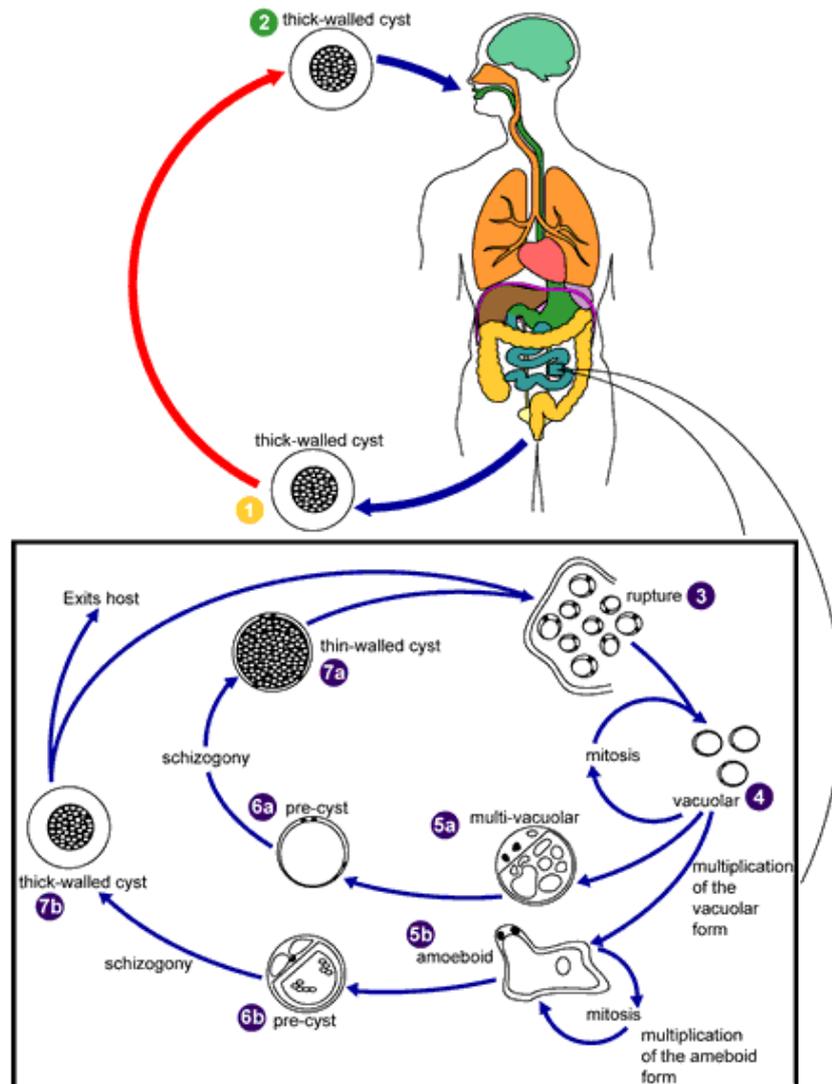
39. Haberman, S. J. (1973). The Analysis of Residuals in Cross-Classified Tables. *Biometrics*, 205-220.
40. Kleinbaum D, K. L. (1988). Variable Reduction and Factor Analysis. Applied Regression Analysis and Other Multivariable Methods. *Journal of the American Statistical Association*, 595-599.
41. Amorín, M. (2007). Mapa Sanitario de la comunidad de Aragón 2007. Zaragoza: Gobierno de Aragón.
42. El Safadi D, M. D.C. (2013). Molecular epidemiology of *Blastocystis* in Lebanon and correlation between subtype 1 and gastrointestinal symptoms. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1203-1206.
43. Salvador F, S. ,M. (14 de Octubre de 2016). Epidemiological and clinical profile of adult patients with *Blastocystis sp.* infection in Barcelona, Spain. Recuperado el 22 de Agosto de 2018 de *Parasites & Vectors*: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5064914/>
44. Laodim P, I. P. (17 de Octubre de 2012). A hospital-based study of epidemiological and clinical data on *Blastocystis hominis* infection. En *Foodborne Pathogens and Disease*, 1177-1082.
45. Roka M, G. P. (2012). Prevalence of intestinal parasites in HIV-positive patients on the island of Bioko, Equatorial Guinea: Its relation to sanitary conditions and socioeconomic factors. *Science of the Total Environment*, 404–411.
46. Kaya S, C. E. (2007). *Pathogenicity of Blastocystis hominis, a clinical reevaluation*. Recuperado el 22 de Agosto de 2018 de *Turkiye Parazitology Dergisi*: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17918055>
47. Yulfi H, D. D. (2017). Intestinal Protozoa Infections and Associated Risk Factors in Rural Community of Samosir Island Indonesia Recuperado el 29 de Agosto de 2018 de *Advances in Health Sciences Research*: <https://www.atlantispress.com/proceedings/phico-16/25875906>
48. Javaherzadeh H, K. S. (2014). Distribution of haematological indices among subjects with *Blastocystis hominis* infection compared to controls. *Gastroenterology Review*, 38–42.
49. Yavasoglu I, K. G. (2008). Is *Blastocystis hominis* a new etiologic factor or a coincidence in iron deficiency anemia? *European Journal of Haematology*, 47-50.
50. Qadri S, O. G. (1989). Clinical significance of *Blastocystis hominis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2407–2409.
51. Boorom K, S. H. (2008). Oh my aching gut: irritable bowel syndrome, *Blastocystis* and asymptomatic infection. *Parasites and Vectors*, 1-40.
52. Hernando J, Abadía V, Álvarez N, Dolor abdominal y eosinofilia (VI Sesión Clínica Interhospitalaria de los Servicios de Urgencias de Aragón 2012).
53. Giacometti A, C. O. (1999). Irritable bowel syndrome in patients with *Blastocystis hominis* infection. *European Journal Clinical Microbiology Infectious Disease* , 436-439.
54. Yakoob J, J. W. (2004). Irritable bowel syndrome: in search of an etiology: role of *Blastocystis hominis*. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 383–385.
55. Poirier P, W. I. (2012). New Insights into *Blastocystis* spp.: A Potential Link with Irritable Bowel Syndrome. *PLoS Pathogens*, 1-4.

56. Cifrea S, G. M. (2018). *Blastocystis* subtypes and their association with Irritable Bowel Syndrome. *Medical Hypotheses*, 4-9.
57. Amin, O. (2002). Seasonal prevalence of intestinal parasites in the united states during 2000. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 799–803.
58. Heyland K, F. M. (2012). No Advantage for Antibiotic Treatment Over Placebo in *Blastocystis hominis* positive Children With Recurrent Abdominal Pain. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 677–679.
59. Quilez J, C. A. (1995). Detection of *Blastocystis* sp. in pigs in Aragon (Spain). *Veterinary Parasitology*, 345-348.
60. Navarro C, D. M. (2008). High prevalence of *Blastocystis* sp. in pigs reared under intensive growing systems: Frequency of ribotypes and associated risk factors. *Veterinary Parasitology*, 347–358.
61. Singh M, S. K. (2012). Elucidation of the life cycle of the intestinal protozoan *Blastocystis hominis*. *Blastocystis spp. infection*. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta
62. Caro, M. (2018). *Mapa Asistencial*. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza.

8. ANEXOS

Anexo A. INTRODUCCIÓN

Anexo A.1 Ciclo de vida de *Blastocystis* spp. (61)



Anexo B. DOCUMENTOS

Anexo B.1 Dictamen favorable del CEICA



**Informe Dictamen Favorable
Trabajos académicos**

C.P. - C.I. PI18/081

11 de abril de 2018

Dña. María González Hinjos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 14/03/2018, Acta N° 05/2018 ha evaluado la propuesta del Trabajo:

Título: Estudio epidemiológico de *Blastocystis hominis* en Aragón.

Alumna: Cristina Matovelle Ochoa

Directoras: Encarnación Rubio Aranda y M^a Pilar Goñi Cepero

Versión protocolo: V2 (10-04-2018)

2º. Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y los principios éticos aplicables.
- El Tutor/Director garantiza la confidencialidad de la información, el cumplimiento de la LOPD y la correcta utilización de los recursos materiales necesarios para su realización.

3º. Por lo que este CEIC emite **DICTAMEN FAVORABLE a la realización del proyecto.**

Lo que firmo en Zaragoza

GONZALEZ
HINJOS MARIA
DNI 03857456B

Firmado digitalmente por
GONZALEZ HINJOS MARIA -
DNI 03857456B
Fecha: 2018.04.13 15:25:14
+02'00'

María González Hinjos
Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

Anexo B.2 Permiso del Jefe de Servicio de Microbiología y Parasitología



Anverso del **Anexo I:** PE-03-1_Z3(X)_Rev.B_Solicitud para realizar Proyectos de Investigación en el Sector III.

Recursos solicitados:					
<input type="checkbox"/>	Revisión de historias clínicas	<input checked="" type="checkbox"/>	Uso de bases de datos	<input type="checkbox"/>	Aplicación de encuestas
<input type="checkbox"/>	* Realización de pruebas diagnósticas	<input type="checkbox"/>	* Aplicación de tratamientos	<input checked="" type="checkbox"/>	* Otros: muestras
<p>*Nota: Describir el tipo de pruebas diagnósticas, tratamiento a utilizar o en su caso cualquier otro recurso solicitado.</p> <p>Se realizarán pruebas de biología molecular sobre muestras de heces, con cargo a líneas de investigación del grupo emergente B124 (Universidad de Zaragoza), por lo que no se requieren recursos por parte del Hospital, salvo el acceso a datos y muestras.</p>					
<p>Duración y cronograma de actividades:</p> <p>Se llevará a cabo en un plazo de 9 meses, desde enero de 2018 a septiembre de 2018, la primera parte de recogida de datos y su análisis. La etapa posterior, prevé el comienzo de recogida de muestras en cuanto nos sea concedido el permiso, hasta un plazo de finales de 2019.</p>					
<p>Análisis de costes: (Especificar los costes derivados de la realización del Proyecto)</p> <p>Este trabajo de investigación no supone coste alguno para el Hospital.</p>					
Firma del Solicitante:		Firma del Tutor:		Firma del Jefe de Servicio y/o Coordinador del Centro de Salud dónde se desarrolle:	
Lugar y Fecha					
En, Zaragoza, a 16 de Enero de 2018					

Reverso del **Anexo I:** PE-03-1_Z3(X)_Rev.B_Solicitud para realizar Proyectos de Investigación en el Sector III.

Anexo B.3 Dictamen favorable del Hospital Clínico Lozano Blesa



ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD Y DE FINALIDAD DE USO EN ESTUDIOS DE INVESTIGACIÓN

D/ Dña: Cristina Ofelia Matovelle Ochoa, con DNI Y3846496J, domiciliado en Calle Pianista Luis Galve N.2 escalera 1, planta 10, apartamento 123, dependiente de la Institución Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, con título de proyecto Epidemiología de *Blastocystis hominis* en Aragón, asume que está sujeto al deber de secreto con respecto a los datos a los que tenga acceso y, por tanto, estará obligado a no reproducir, modificar, hacer pública o divulgar a terceros la información a la que pueda tener conocimiento con motivo de la realización de un proyecto de investigación dentro del Sector Zaragoza III. Sólo podrán divulgarse, en medios y con fines exclusivamente científicos los resultados derivados de los objetivos propios de la investigación, aunque siempre asegurando que no existe posibilidad alguna, bien directa o indirectamente, de identificar personalmente a los pacientes.

El solicitante se reconoce con capacidad para obligarse a cumplir el presente Acuerdo de Confidencialidad y No Divulgación de Información en base a las siguientes **ESTIPULACIONES:**

Primera: El solicitante únicamente podrá utilizar la información para fines ligados a la realización del proyecto de investigación, comprometiéndose a mantener la más estricta confidencialidad de la información, aún después de la conclusión de dicho proyecto.

Segunda: Que, de conformidad con lo establecido en la Ley 41/2002, el acceso a la Historia Clínica con fines de investigación, obliga a preservar los datos de identificación personal de paciente, separados de los de carácter clínico-asistencial, de manera que quede asegurado el anonimato, salvo que el propio paciente haya dado su consentimiento para no separarlos.

Tercera: En caso de que la información resulte relevada o divulgada por cualquier medio (impreso, gráfico, electrónico, etc.,) por el solicitante, de cualquier forma distinta del objeto de este Acuerdo, ya sea de carácter doloso o por mera negligencia, será responsable de acciones civiles o penales en su contra emprendidas por la autoridad correspondiente.

Cuarta: El solicitante se obliga a devolver la información en cualquier momento en el supuesto que existiere un cese de la relación entre ambas partes por cualquier motivo.

Quinta: El presente Acuerdo entrará en vigor en el momento de la firma por ambas partes, extendiéndose su vigencia de forma indefinida.

En Zaragoza, a 16 de enero de 2018

Firma de la Dirección

Firma del Solicitante:

Fdo.: Isabel Gullóñez Cía

Fdo.: Cristina Matovelle Ochoa.

Anexo II: PE-03-1_Z3(X)_Rev.B_Acuerdo de Confidencialidad.

Anexo C. RESULTADOS

Anexo C.1 Síntomas presentados por pacientes positivos para *Blastocystis* spp.

Síntomas	Total (%)
Dolor abdominal	286 (84,9)
Diarrea Crónica	85 (25,2)
Diarrea Aguda	55 (16,3)
Náusea	23 (6,8)
Constipación	19 (5,6)
Vómito	45 (13,3)
Anemia	26 (7,7)
Anorexia	14 (4,2)
Fiebre	16 (4,7)
Aerofagia	31 (9,2)
Picor anal	18 (5,3)
Halitosis	5 (1,5)
Urticaria	80 (23,7)
Rash de piel	66 (19,6)
Dolor tórax	7 (2,1)
Dispepsia	22 (6,5)

Anexo C.2 Patógenos asociados en los pacientes positivos para *Blastocystis* spp.

Patógenos	Total (%)
<i>Aeromonas</i>	5 (1,5)
<i>Campylobacter</i>	3 (0,9)
<i>Escherichia coli</i>	2 (0,6)
<i>Salmonella</i>	7 (2,1)
<i>Shigella</i>	0 (0,0)
<i>Yersinia</i>	1 (0,3)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	0 (0,0)
<i>Dientamoeba</i>	8 (2,4)
<i>Cryptosporidium</i>	2 (0,6)
<i>Strongyloides</i>	1 (0,3)
<i>Entamoeba</i>	4 (1,2)
<i>Enterobius</i>	1 (0,3)
<i>Gardia lamblia</i>	14 (4,2)
<i>Hymenolepis</i>	2 (0,6)
<i>Isospora</i>	0 (0,0)
<i>Trichuris trichura</i>	0 (0,0)
<i>Helicobacter pylori</i>	13 (3,9)

Anexo D. Mapa

Anexo D.1 Tasa de infección de los Centros Tasas de Centros de Salud de Área de Salud III de Zaragoza (62)

