

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“TRIMETOPRIM CON SULFAMETOXAZOL PARA LA
ERRADICACIÓN DE *BLASTOCYSTIS* SP. EN ESCOLARES”**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

PRESENTA:

PQFB. DIEGO JOSIMAR HERNÁNDEZ SILVA

BAJO LA ASESORÍA DE:

QFB. GUADALUPE ERÉNDIRA OROZCO MOSQUEDA

COASESOR:

MC. JOSÉ LUIS MARTÍNEZ TOLEDO

MORELIA MICHOACÁN

SEPTIEMBRE 2010

A mis padres:

La mayor muestra de su cariño, amor y apoyo se ve reflejada en la formación y educación que me dieron. Cómo hubiese llegado hasta este peldaño de la vida sin el gran corazón humilde y lleno de amor de mis padres.

A mis hermanos:

Compañeros de vida que siempre serán tus amigos y estarán a tu lado sin importar lo que pase, siempre apoyando incondicionalmente.

Agradecimientos:

Papá y mamá, nada es suficiente para mostrar mi gratitud. Pero es mi deber hacerlos saber que con cada día que pasa me siento más en deuda con ustedes. Gracias infinitamente. ¡Los amo!

Julio, por tu compañía y por tantos años que me has enseñado lo que es correcto y lo que no. Carlos, por tu alegría me ha dado momentos felices y ánimo para seguir. Leslie, tu apoyo y confianza son la mejor cosa que me hayas podido brindar. Gracias a mis hermanos.

Química Eréndira Orozco, agradezco que compartiera conmigo su amistad, su tiempo, su trabajo y todo su conocimiento.

Dr. José Luis Martínez Toledo y Dr. Mario López Ireta por su ayuda en la elaboración de este trabajo.

Al personal del Laboratorio de Investigación en Microbiología y Parasitología, varios años aprendiendo con ustedes.

Karina, Selene, Angélica, Briza, Simón, Viridiana, Iris, Samantha, Jorge, Adela, Alejandra, y a todos mis amigos, por su apoyo a través de los años, todos me han dejado grandes lecciones.

¡A todos mil Gracias!

Resumen

La prevalencia mundial de *Blastocystis sp.* oscila entre 2% y 50% y está estrechamente ligada a malas condiciones de saneamiento básico, hacinamiento y desnutrición. En países desarrollados, se reportan frecuencias bajas mientras que en países en vías de desarrollo, *Blastocystis sp.* es uno de los parásitos intestinales mayormente reportados, siendo la población infantil la más afectada.

En cuanto al tratamiento, varios medicamentos se han probado: el metronidazol con resultados variables y sin respuesta al tratamiento, el secnidazol que ocasionalmente erradica a *Blastocystis* y el uso de la nitazoxanida como antiparasitario se ha cuestionado como antiparasitario. Asimismo, se ha puesto a prueba el fármaco trimetoprim con sulfametoxazol para la erradicación de *Blastocystis* con alto grado de efectividad. En nuestro medio, se tiene poca experiencia acerca del éxito terapéutico del medicamento, por lo que en el presente trabajo se pretende probar la efectividad como antiparasitario en parasitosis única y asociada a parasitos comensales.

Se colectaron 120 muestras, en serie de 3, de alumnos de la Escuela Primaria Rural Federal “Profesor Rafael Ramírez” y de niños del servicio de consulta externa del Hospital Infantil “Eva Sámano de López Mateos”, las cuales se procesaron por examen directo en fresco, técnicas de concentración por flotación y por sedimentación y tinción de Kinyoun.

De 120 niños analizados, el 68% cursaba con alguna parasitosis, siendo *Blastocystis sp.* el más frecuente, asociado en un 54% a otros parásitos y como único agente en un 30%.

En cuanto a la efectividad del medicamento, fue aplicada la prueba de Fisher demostrando que existe diferencia estadísticamente significativa en el tratamiento en parasitosis única y mixta.

Índice

Contenido

Dedicatoria

Agradecimientos

Resumen.

1.	Introducción	6
2.	Antecedentes	7
3.	Descripción del parásito	10
3.1	Morfología.....	10
3.2	Ciclo de vida.....	14
3.3	Modo de transmisión.....	16
3.4	Cuadro clínico	16
3.5	Diagnóstico	16
3.6	Tratamiento	17
4.	Justificación	18
5.	Planteamiento del problema.	19
6.	Objetivos	20
6.1	Objetivo general	20
6.2	Objetivos específicos.....	20
7.	Material y Métodos.....	21
8.	Resultados	26
9.	Discusión	30
10.	Conclusiones.....	31
11.	Recomendaciones.	32
12.	Bibliografía.	33
13.	Anexos.....	37

1. Introducción

El Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica de México reporta, semanalmente, aproximadamente más de mil casos de infecciones intestinales causadas por protozoarios durante los años 2008 y 2009 solamente en el Estado de Michoacán ⁽¹⁾. Entre los más comúnmente reportados está el *Blastocystis sp.*, un parásito entérico de humanos y muchos animales. Este parásito tiene distribución mundial y continuamente es el organismo aislado más comúnmente en estudios parasitológicos ^(2,3). Algunas formas como la vacuolar, la granular y la ameboidea han sido reconocidas, pero estudios recientes han revelado diversas formas adicionales (quistes, avacuolar, y multivacuolar) ⁽⁴⁾. La bioquímica del organismo no se ha estudiado extensamente y organelos y estructuras de función y composición desconocida están presentes en las células. Se han propuesto diversos ciclos de vida pero no se han validado experimentalmente ⁽⁴⁾, por lo cual su taxonomía y papel patogénico están en disputa ⁽³⁾. La prevalencia reportada de *Blastocystis sp.* va desde un 2 al 50 % con los rangos más elevados en países en vías de desarrollo con poca higiene ambiental ⁽⁵⁾.

Como tratamiento contra este microorganismo se ha utilizado metronidazol con resultados variables, incluida la resistencia al tratamiento ⁽⁶⁾. Se han reportado cepas con diferente grado de resistencia a este fármaco en estudios realizados en Bangladesh y Malasia ⁽⁷⁾. De igual forma pueden llegar a presentarse reacciones adversas como náuseas y diarrea, mareos, cefalea, pérdida del apetito, vómitos, dolor o calambres abdominales, cambios en la sensación del gusto, estreñimiento, sequedad bucal ⁽⁸⁾, lo que induce al abandono del tratamiento. Otra alternativa de tratamiento es el secnidazol, un compuesto derivado del metronidazol y que ocasionalmente erradica a *Blastocystis sp.* ⁽⁹⁾ La nitazoxanida también se ha cuestionado como antiparasitario ya que en diversos estudios realizados se han reportado efectos adversos severos y su eficacia no es mayor a la de otros antiparasitarios ^(10,11). Sin embargo, se ha puesto a prueba el fármaco trimetoprim con sulfametoxazol para la erradicación de *Blastocystis* con alto grado de efectividad ^(12,13).

Con este estudio se pretende analizar el uso y las posibles reacciones adversas del trimetoprim con sulfametoxazol para la erradicación de *Blastocystis sp.* para ofrecerlo como alternativa al tratamiento contra éste parásito.

2. Antecedentes

La primera descripción ilustrada del organismo después llamado *Blastocystis sp.* fué realizada por Brittan y Swayne, quienes estudiaron profundamente la epidemia de cólera en Londres en 1849. Las células que Swayne llamó “*cuerpos de cólera*” y Brittan “*células anulares*” fueron señaladas por ellos como la causa del cólera⁽¹⁴⁾. La primera documentación que define claramente al género *Blastocystis* como un organismo distinto (una levadura) fue presentada por Alexeieff en 1911, quien propuso el término *B. enterocola*, una descripción morfológica extensa fue dada y un ciclo de vida fue presentado^(4,14). En 1912, Brumpt la llamó *B. hominis* y la clasificó como una levadura intestinal inocua y de importancia por el hecho de ser probablemente confundida con *Entamoeba histolytica*, la descripción y término acuñados ganaron presencia rápidamente siendo nombrado así el parásito hasta hace varios años^(6, 14). Eventualmente, se reportaron casos de enfermedades intestinales atribuidas a *Blastocystis hominis*; sin embargo al mismo tiempo se publicaron casos donde su participación como patógeno no se evidencia, existiendo así una controversia⁽⁶⁾.

A través de los años *Blastocystis sp.* se ha reclasificado taxonómicamente, basándose en su diversas formas y medidas, su fisiología única y algunas de sus formas de reproducción. Desde su reclasificación en 1976 se ha situado en diversas familias y un sinnúmero de investigadores han intentado clasificarlo, fueron requeridas, para el género *Blastocystis*, especie *hominis*, una nueva clase, *Blastocystea*, de orden, *Blastocystida*, propuesta por Levine y sus colaboradores en 1985⁽¹⁴⁾, y Silberman (1996) utilizando secuencias del ARN ribosómico de *Blastocystis* lo ubica dentro del reino Chromista o Stramenophila un grupo de diversos organismos que incluye las algas marrones y diatomeas⁽⁶⁾. En un consenso publicado en 2007 se uniformiza la información de los subtipos descritos previamente concluyéndose la existencia de 9⁽²⁾, sin embargo, en 2010 Stensvold y colaboradores determinaron la existencia de un décimo subtipo⁽¹⁵⁾ y se propone la eliminación del término “*Blastocystis hominis*” dando paso a la utilización del término *Blastocystis sp.* seguido de un subtipo del 1 al 10 en toda muestra aislada de aves y mamíferos. Dicho cambio en la nomenclatura obedece a la baja especificidad del germen por su hospedero lo que hace inadecuada la nomenclatura relacionada a un sólo hospedero (en este caso el hombre: *hominis*) y en vista de la creciente evidencia a favor de la probable existencia de dos o más especies de *Blastocystis*^(6, 16, 17).

Durante varios años se han realizado diversos estudios clínicos que pretenden relacionar a *Blastocystis sp.* con los síntomas y malestares de personas que cursan con la parasitosis. Así, un estudio realizado en Canadá, donde se procesaron más de 15 000 muestras de pacientes ambulatorios por año durante los años 1987 y 1986 ¿son correctos los años?, identificando *Blastocystis sp.* en 530 de 16,545 muestras de 425 pacientes examinados durante ese periodo. En el mismo estudio sólo 19 pacientes fueron clasificados como portadores asintomáticos. Algunos de los pacientes tuvieron resolución de los síntomas después de administrado un tratamiento parasitario, mientras a otros los síntomas fueron delimitados por sí mismos⁽¹⁸⁾. En Nueva York, *Blastocystis sp.* fue encontrado en muestras de 62 pacientes de 389 analizados en total, en 43 de estos pacientes se presentaron síntomas y se encontraron un promedio de organismos igual a 5 por campo en 40X⁽¹⁹⁾,

Las enfermedades parasitarias intestinales constituyen una de las infecciones más comunes, a nivel mundial y de mayor prevalencia en las comunidades empobrecidas de los países en desarrollo. Se estima que unas 3,500 millones de personas están afectadas por estas infecciones y que 450 millones manifiestan enfermedad, siendo la mayoría niños ⁽³⁴⁾.

La prevalencia mundial de *Blastocystis sp.* oscila entre 2% y 50% y está estrechamente ligado a las malas condiciones de saneamiento básico, hacinamiento y desnutrición ⁽²¹⁾. En países desarrollados, se reportan frecuencias bajas: Japón (0.5% a 1%) ^(35,36), Singapur (3.3%) ⁽³⁷⁾; en Salamanca, España, Martín-Sánchez y colaboradores (1992) reportan una prevalencia de 13.4% en escuelas de educación primaria y de 5.3% en guarderías ⁽³⁸⁾. Amin y colaboradores (2006) realizaron un extenso estudio en Estados Unidos de América donde se demuestra que *Blastocystis sp.* es el parásito más común en el país; sin embargo, la prevalencia disminuyó de 23% a 11% en dos años ⁽³⁹⁾. Asimismo, en Tailandia se reporta en un rango de entre 3.6% y 4.3%, siendo la temporada de lluvia donde se encuentra con mayor frecuencia ⁽⁴⁰⁾.

En América Latina, *Blastocystis sp.* es uno de los parásitos intestinales mayormente reportados ⁽³⁴⁾. La población infantil es la más afectada así como los pacientes inmunocomprometidos ^(2, 6, 41). En el estado de Bolívar, Venezuela, Devera y colaboradores (2006) realizaron un estudio en comunidades rurales donde los protozoarios fueron los parásitos más frecuentes, siendo *Blastocystis sp.* el más prevalente con un 62% ⁽⁴²⁾. En Argentina, Brasil y Cuba es el parásito más reportado con frecuencias del 27.2%, 40.9% y 38.5% respectivamente ^(43, 44, 45). Muñoz y colaboradores (2006) en la ciudad de La Paz, Bolivia realizaron un análisis a manipuladores de alimentos en mercados y encontraron que *Blastocystis sp.* es el parásito de mayor prevalencia con un 80.2% ⁽⁴⁶⁾.

Con respecto a México, en Guerrero se evidenció que *Blastocystis sp.* es el parásito más frecuente en población escolar y preescolar, tanto en parasitosis única como asociada a otros parásitos; asimismo se analizaron factores de riesgo para la transmisión del parásito destacando entre ellos el tomar agua hervida y de la llave y la defecación a ras del suelo o traspatio ⁽²⁰⁾. En San Luis Potosí se reportó una prevalencia de 4,6% de *Blastocystis sp.* en población de edad escolar ⁽²¹⁾. Al igual que en vendedores de fruta en Xochimilco, México, donde al 41.7% de personas muestreadas se les encontró el mismo parásito ⁽²²⁾.

Diversos medicamentos han sido evaluados para erradicar a este parásito. Nadham y colaboradores (2005) obtuvieron sólo el 30% de respuesta positiva al tratamiento con metronidazol en un estudio realizado para probar la efectividad de este fármaco ⁽⁴⁷⁾. En la evaluación de secnidazol como tratamiento contra *Blastocystis sp.* realizada por Guzmán y colaboradores (2008) se observó que en el 14% de la población analizada se eliminó por completo al parásito y en el resto hubo una disminución de formas parasitarias por campo, de la frecuencia e indujo la formación de quistes ⁽⁹⁾.

Ok Üigen y colaboradores (1999) analizaron pacientes que presentaban *Blastocystis sp.* administrándoles trimetoprim con sulfametoxazol y obtuvieron como resultado una erradicación

del parásito en un 94.7% en niños y de un 93.3% en adultos ⁽¹³⁾. De la misma manera, Dorostkar y colaboradores (2005) evaluaron la eficacia de trimetoprim con sulfametoxazol concluyendo que es efectivo en la mayoría de las infecciones causadas por *Blastocystis sp.* ⁽³³⁾

El metronidazol es uno de los 5-nitroimidazoles más utilizados en el tratamiento contra *Blastocystis sp.* pero se ha observado cierta ineficacia en algunos individuos, al igual que cierto grado de resistencia al fármaco ⁽⁷⁾. La mayoría de los 5-nitroimidazoles (metronidazol, tinidazol, ornidazol, cardinazol) requieren varios días de tratamiento y presentan efectos secundarios estomacales, lo cual conduce al incumplimiento del tratamiento por parte del paciente ⁽⁹⁾.

De la misma forma se ha evaluado el uso del secnidazol como antiparasitario contra *Blastocystis sp.* y se demuestra la poca eficacia al igual que los otros 5-nitroimidazoles ⁽⁹⁾.

Una de las alternativas para la erradicación de *Blastocystis sp.* es el trimetoprim con sulfametoxazol ⁽²³⁾ el cual es una sulfamida antiséptica bacteriostática de amplio espectro. El sulfametoxazol es análogo estructural del ácido *p*-aminobenzoico e inhibe de manera competitiva una enzima bacteriana y protozoaria ⁽²⁴⁾, la dihidropteroato sintetasa, que es responsable de la incorporación del ácido *p*-aminobenzoico al ácido dihidrofólico, por consiguiente, bloquea la síntesis de purinas, timidina y ADN. El trimetoprim es una base débil lipófila bacteriostática, estructuralmente relacionada con la pirimetamina; se une a la enzima bacteriana dihidrofolato reductasa inhibiéndola, de esta manera bloquea la producción de ácidos nucleicos y proteínas ⁽²⁵⁾.

Algunos autores como Kennedy y colaboradores (1993) han reportado que el uso de trimetoprim con sulfametoxazol produce efectos secundarios como rash cutáneo, fiebre, que se resuelven inmediatamente después suspender el tratamiento ⁽²⁶⁾, Kocak y colaboradores (2006) mencionan en uno de sus trabajos que pacientes que fueron administrados con trimetoprim sulfametoxazol presentaron dolor leve abdominal y erupciones cutáneas ⁽²⁷⁾.

Ok Üigen y colaboradores (1999) realizaron un estudio donde el 94.1% de la población analizada respondió satisfactoriamente a trimetoprim con sulfametoxazol como tratamiento para la erradicación de *Blastocystis sp.* ⁽¹³⁾ Moghaddam y colaboradores (2005) compararon la eficacia de Metronidazol con trimetoprim con sulfametoxazol en la erradicación de este parásito, obteniendo un 30% y 22.2% respectivamente, concluyendo que ambos fármacos son efectivos pero no en todos los pacientes ⁽¹²⁾.

3. Descripción del parásito

Desde su descubrimiento, *Blastocystis* fue punto de controversia, siendo primero clasificado como una levadura, y después como un protozooario, hasta su reciente reclasificación en el reino Chromista o Stramenophila. El término *Blastocystis hominis* fue utilizado por primera vez por Brumpt hace casi 100 años y desde aquel entonces había sido utilizado universalmente para describir a este parásito gastrointestinal^(16, 28).

Blastocystis sp. fue inicialmente clasificado como quiste de un flagelado, como levadura y como hongo. Fue reclasificado como protista por Zierdt y colegas (1991) basados en que presenta un gran número de características protistas. El subsecuente análisis molecular de *Blastocystis sp.* resultó en la conclusión de que debería pertenecer al género Stramenopiles⁽²⁾. Estudios genéticos posteriores propusieron una nueva reclasificación para *Blastocystis sp.* situándolo en una nueva clase creada, Clase *Blastocystea*, subphylum *Opalinata*, infrareino *Heterokonta*, subreino *Chromobiota*, reino *Chromista*^(2,6,29). En los últimos años se ha puesto de manifiesto la preponderancia del análisis genético por sobre los criterios estructurales y fisiológicos en la clasificación taxonómica. Investigaciones recientes basadas en el estudio filogenético del RNA de la subunidad ribosomal, posicionan a *Blastocystis* como el único parásito descrito en humanos perteneciente al reino Stramenophila o Chromista, el cual incluye a las algas marrones y diatomeas^(2, 6,29).

3.1 Morfología

Blastocystis sp. es un microorganismo polimórfico y cuatro principales estructuras se han descrito, pero un gran número de reportes de *Blastocystis sp.* de materia fecal y de biopsias del intestino del huésped han indicado que existen formas adicionales, aunque estas formas no han sido incluidas en el diagnóstico^(2,29).

El citoplasma contiene organelos observados típicamente en eucariotas. El organismo está comúnmente rodeado por un recubrimiento superficial, algunas veces referido como una capa fibrilar o cápsula. El revestimiento superficial contiene una variedad de carbohidratos y se ha postulado que desempeña una participación en la captura y degradación de bacterias para su nutrición, protección contra el choque osmótico o para proveer una barrera mecánica para las proteínas plasmáticas funcionalmente importantes del sistema inmune⁽²⁾.

El organismo demuestra marcada variabilidad morfológica y mide entre 5 a 40 micrómetros⁽⁶⁾. Estudios ultraestructurales recientes indican que existe una serie de variantes morfológicas de *Blastocystis sp.*, en las que al parecer la forma de presentación depende del medio ambiente, factores físicos como cambios osmóticos, la presencia de ciertas drogas, y el status metabólico pueden influenciar la morfología del organismo *in vivo* e *in vitro*⁽⁶⁾.

Forma Vacuolar. La forma vacuolar se caracteriza por una gran vacuola central que ocupa aproximadamente el 90% del volumen celular. Esta vacuola desplaza al citoplasma y organelos dentro de un anillo periférico, el cual algunas veces puede ser difícil de visualizar en el microscopio óptico. El núcleo, las mitocondrias y los organelos son usualmente localizados entre una región densa del citoplasma. La forma vacuolar es la más descrita en muestras de heces además de ser la forma predominante del organismo en cultivos, siendo considerada la forma celular típica de *Blastocystis sp.* y por lo tanto la forma usualmente utilizada para el diagnóstico^(2,6,29) (Fig. 1).

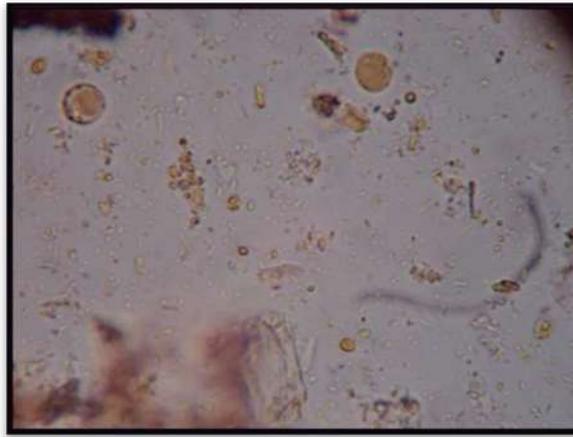


Figura 1. Forma vacuolar. En la imagen se aprecia la típica vacuola ocupando la mayor parte del citoplasma de la célula, lo que produce que los organelos sean desplazados a la periferia. Tomada en el Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia.

Forma granular. La forma granular de *Blastocystis sp.* tiene una ultraestructura similar a la de la forma vacuolar^(2,6), pero con variantes morfológicas y citoquímicas, las cuales están contenidas en la vacuola central⁽²⁹⁾, excepto que los gránulos están presentes entre el citoplasma o más comúnmente entre la vacuola central del organismo. Los gránulos se observan comúnmente en cultivos viejos o tratados con antibióticos. Los gránulos intracelulares son heterogéneos y se han descrito como inclusiones de mielina, pequeñas vesículas y gránulos cristalinos⁽⁶⁾.

La forma granular es esférica y algunas veces irregular, con un diámetro desde 3 μm a 80 μm , también presenta una banda delgada de citoplasma alrededor de la vacuola central y cuenta con la presencia de endosimbiontes⁽²⁹⁾.

La forma vacuolar y granular pueden contener diferentes tipos de gránulos, de los cuales se sugieren los siguientes:

- a) Gránulos metabólicos localizados en el citoplasma
- b) Gránulos lipídicos dentro de la vacuola central
- c) Gránulos reproductivos en la vacuola central⁽²⁹⁾ (Fig. 2).

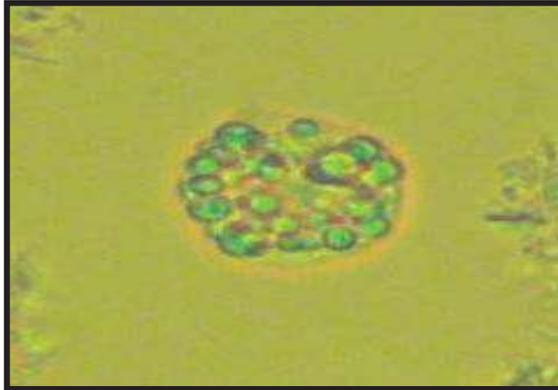


Figura 2. Forma granular. Se observa claramente los gránulos localizados en el citoplasma y la membrana citoplasmática delimitando la célula. Cortesía Dra. Rosamaría Bernal Redondo, Hospital Infantil de México.

Forma multivacuolar y avacuolar. La vacuola está ausente en la forma avacuolar, mientras que las formas multivacuolares contienen múltiples vacuolas pequeñas. La reducida medida de las distintas formas, tanto multivacuolar como avacuolar, puede ser debida a la variación de linaje celular o pueden ser posibles células en varios estadios de enquistamiento o desenquistamiento ⁽²⁾.

Las formas multivacuolares son más pequeñas, aproximadamente de 5 a 8 μm de diámetro, que las formas vacuolares y granulares; presenta generalmente 1 núcleo ó 2 núcleos ocasionalmente, también presenta una banda electrodensa en el extremo del núcleo; que es una capa gruesa que rodea a todas las formas multivacuolares y se encuentra la presencia de bacterias ⁽²⁹⁾.

La forma avacuolar mide aproximadamente 5 μm de diámetro, no contiene vacuola central, contiene de 1 a 2 núcleos, presentan mitocondrias e inclusiones que están en el interior de la matriz citoplasmática ⁽²⁹⁾.

Forma ameboidea. Se ha sido reportado escasamente y sólo en cultivos se ha podido diferenciar de las demás formas existentes. Mide de 3 a 8 μm de diámetro con un contorno irregular, con 1 o 3 núcleos y generalmente con estructuras semejante a pseudópodos, presenta gránulos refringentes que hasta la fecha no se sabe su función; puede fagocitar bacterias, éstas se encuentran dentro del citoplasma y se sugiere que son las que dan o promueven el cambio a quiste ^(2, 4, 6, 29) (Fig. 3).

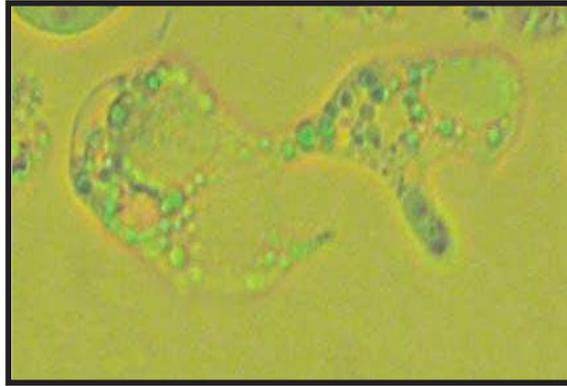


Figura 3. Forma ameboidea. Se puede apreciar la célula parasitaria emitiendo pseudópodos, los cuales son la forma de locomoción típica de las formas ameboideas en los parásitos. Cortesía Dra. Rosamaría Bernal Redondo, Hospital Infantil de México.

Forma quística. Es la forma más recientemente descrita del parásito debido a su tamaño que varía entre 2 y 5 μm . Los quistes varían en su forma pero la mayoría de las ocasiones son ovoides o esféricos. El quiste está protegido por una pared de capas múltiples, que puede estar o no recubierta por una membrana superficial. El citoplasma puede contener de uno a cuatro núcleos, mitocondrias, depósitos de glucógeno y pequeñas vacuolas. Se ha reportado que los quistes de *Blastocystis sp.* son capaces de sobrevivir en agua por más de diecinueve días a una temperatura ambiente, pero es frágil en temperaturas extremas ⁽²⁾ (Fig. 4).

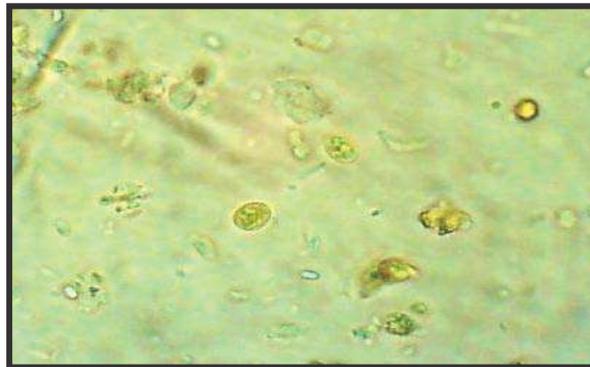


Figura 4. Forma quística. Se aprecian quistes de *Blastocystis sp.* con una membrana superficial características de estas formas. Cortesía de QFB. Arturo Martínez Colón, Hospital Infantil de Morelia.

En muestras procedentes de medios de cultivo se ha reconocido además la forma de esquizonte ⁽²⁹⁾ y Suresh y colaboradores (2009) confirmaron la existencia de un estado de prequiste que tiene una pared celular inmadura siendo un estado intermediario entre la forma vacuolar y el quiste ⁽³⁰⁾.

3.2 Ciclo de vida

Numerosos ciclos de vida se han propuesto, y estas discrepancias promueven que la teoría de que *Blastocystis sp.* exhibe una variedad de formas de reproducción ⁽²⁾. La ruta más probable de transmisión es la vía fecal-oral por alimentos o agua contaminada y una de las características de *Blastocystis sp.* es que es anaerobio estricto y requiere la presencia de bacterias las cuales favorece el polimorfismo. Como su ciclo vital no se ha establecido completamente por ningún autor, se mencionan dos propuestas importantes del ciclo de *Blastocystis sp.* ⁽²⁹⁾

La primera propuesta empieza por la ingesta de quistes avacuolares con agua y alimentos contaminados con heces que contienen al quiste, las cuales viajan a través del epitelio intestinal preferentemente el intestino delgado, hay una ruptura del quiste inducida por el pH del estómago, hay una mitosis la cual genera la forma vacuolar y ésta se va por dos caminos: ⁽²⁹⁾

1. Provocar una autoinfección generada por la forma multivacuolar o amibiana la cual pasa a prequiste y por medio de una esquizogonia genera un quiste avacuolar.
2. El otro camino es la multiplicación de la forma vacuolar dando origen a la forma ameboidea, dentro de ésta sucede el fenómeno de mitosis la cual pasa a la forma de prequiste y por esquizogonia da origen al quiste avacuolar, el cual sale del huésped, esta forma de *Blastocystis sp.* es la que se presume responsable de la patogenia en el huésped y con la relación de la contaminación de agua y alimentos ⁽²⁹⁾.

La propuesta más reciente se relaciona con la anterior, pero con sus variantes por lo que dice que la infección es por vía fecal-oral. Presenta cuatro formas de reproducción asexual: bipartición, plasmotomía, esquizogonia y endodiogonia ⁽²⁹⁾.

- a) La fisión binaria: mecanismo asexual en el cual, la célula crece, duplica su material genético y luego se divide por la mitad; este proceso da origen a dos células, cada una de las cuales repite el proceso. Se realiza en la forma vacuolar y ameboide, el proceso se lleva a cabo a través de una serie de pasos sucesivos que se inician con la obtención de nutrimentos; con los que la célula sintetiza las sustancias como el DNA, el RNA y las proteínas, cuando esto sucede, la célula crece (aumenta su masa y tamaño). Posteriormente, se sintetizan los componentes de la pared transversal y se inicia la fisión que da como resultado dos células nuevas ⁽²⁹⁾.
- b) La división plasmotómica: división o segmentación del núcleo de una célula u organismo unicelular en individuos más pequeños que todavía son multinucleados. En la plasmotomía no se produce mitosis, se trata de un proceso de formación de numerosos núcleos dentro de una sola membrana celular ⁽³¹⁾.
- c) La endodiogonia da como resultado dos individuos dentro de la célula madre.
- d) La esquizogonia ocurre en el cuerpo central formando gran cantidad de progenie (esquizonte) hasta que la célula se rompe liberando a los organismos, produce de dos a 30 células vacuoladas en el interior de un solo organismo ⁽²⁹⁾ (Fig. 5).

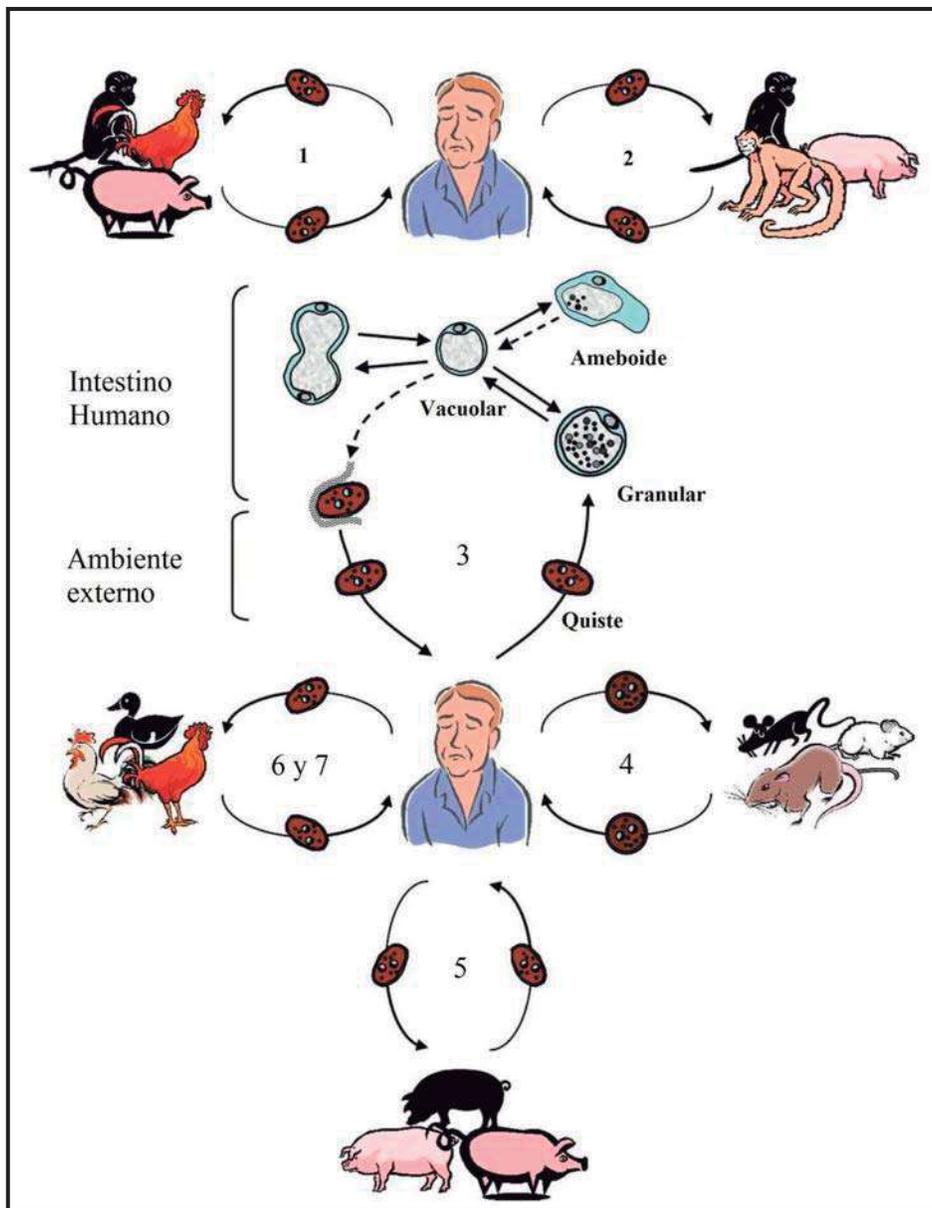


Figura 5. Ciclo de vida para *Blastocystis sp.* Tomando en cuenta estudios que sugieren genotipos zoonóticos con varios hospederos específicos. Los humanos y los animales son infectados con quistes de materia fecal, los cuales se desarrollan en formas vacuolares en el intestino delgado. En humanos la forma vacuolar se divide por fisión binaria y se puede desarrollar a forma ameboidea o granular. La forma vacuolar se enquista en el intestino del hospedero, y la forma quística intermedia puede ser rodeada de una delgada capa fibrilar que subsecuentemente es perdida durante el paso al ambiente exterior. Estas vías hipotéticas son representadas por líneas punteadas. El subtipo 1 infecta de forma cruzada a mamíferos y aves; los subtipos 2, 3, 4 y 5 incluye primates y ganado porcino, humanos, ganado vacuno y porcino, y roedores, respectivamente y los subtipos 6 y 7 incluyen aves. El esquema propuesto sugiere que los humanos son potencialmente infectados por siete o más especies de *Blastocystis* y que ciertos animales representan reservorios para la transmisión a humanos. Fuente: Tan, K. S. 2008. *Blastocystis* spp. In N. A. Khan (ed.), Emerging protozoan pathogens. Taylor and Francis, Oxford, United Kingdom.

3.3 Modo de transmisión

Pese a que la ruta de transmisión de *Blastocystis sp.* no se ha determinado de un modo definido se ha reportado la dispersión de la infección entre miembros de una familia así como entre pacientes internados y en comunidades sin un manejo sanitario adecuado ⁽⁶⁾; se cree que es transmitido por la ruta fecal-oral ⁽⁴⁾, a través de un consumo de agua no tratada (no hervida) o con condiciones higiénico- sanitarias pobres, alimentos o incluso vectores mecánicos como moscas, portadores asintomáticos y prácticas sexuales ⁽³²⁾.

3.4 Cuadro clínico

Un reporte publicado por Clark y colaboradores (1997) indica que hay un número igual de estudios que implican o exoneran al parásito *Blastocystis sp.* como el causante de enfermedad. Se le han atribuido síntomas no específicos los cuales incluyen náusea, anorexia, dolor e inflamación abdominal, flatulencia y diarrea crónica o agudas, de estos síntomas los más comúnmente reportados son el dolor abdominal y la diarrea ⁽²⁾.

Algunos síntomas atribuidos a la infección por *Blastocystis sp.* son inespecíficos, la presencia de síntomas parece estar asociada con tres factores ⁽²⁹⁾ como: a) el número de parásitos: algunos autores han sugerido que *Blastocystis* es probablemente patógeno si es abundante (usualmente clasificado como más de 5 organismos por campo microscópico de aceite de inmersión) y que en cantidades menores, no debería ser considerado como una causa potencial de la sintomatología del paciente ⁽⁶⁾. b) La inmunosupresión o pacientes inmunocomprometidos y c) la relación con otras enfermedades ⁽²⁰⁾.

3.5 Diagnóstico

Blastocystis sp. posee un reto considerable para el diagnóstico de laboratorio. Primero por su patogenicidad inespecífica, que esconde muchos de los síntomas clínicos para poder considerar al parásito con el agente etiológico de la enfermedad ⁽²⁾. Secundariamente, la naturaleza pleomórfica del organismo en muestras frescas puede resultar en confusión ^(2,6). Además de la dificultad para hallar el organismo en la disolución en agua y la destrucción del organismo con las técnicas de concentración habituales ⁽⁶⁾. El método predilecto para el diagnóstico microscópico es la tinción permanente de una muestra de heces no concentrada con hematoxilina o tinción tricrómica. La microscopía directa es usualmente realizada para especímenes teñidos. Las muestras en fresco son teñidas con yodo-lugol y pueden ser teñidas permanentemente con las técnicas de Giemsa, Fields y tricrómico, siendo esta última la más utilizada ^(2,6).

Las técnicas de cultivo en heces están disponibles, sin embargo, no se realizan de rutina aunque estudios comparativos reflejan que podrían ser más sensibles que la microscopía óptica ⁽⁶⁾. Los exámenes recientemente desarrollados para el diagnóstico de infección por *Blastocystis sp.* son la técnica de ELISA para la detección de anticuerpos séricos y la reacción en cadena de polimerasa, pero actualmente son usadas en investigación ⁽⁶⁾.

3.6 Tratamiento

Se han realizado estudios donde se ha pretendido estudiar diversos medicamentos para la erradicación de *Blastocystis sp.* Anteriormente se tenía al metronidazol como primera opción como quimioterapéutico contra este parásito ⁽³³⁾. Haresh y colaboradores (1999) demostraron que el parásito presenta cierta resistencia a este antiparasitario que regularmente utilizado en infecciones por protozoarios y bacterias anaerobias ⁽⁷⁾. De igual forma, Guzmán y colaboradores (2008) evaluaron el efecto antiparasitario del secnidazol sobre *Blastocystis sp.* y evidenciaron la ineficacia para erradicar el parásito; sin embargo, hubo una disminución significativa del parásito al cuantificar el número de elementos por campo ⁽⁹⁾. Estudios realizados por Ok Ülgen y colaboradores (1999) demostraron que el trimetoprim con sulfametoxazol erradicó en un 94% a *Blastocystis sp.* tanto en niños como en adultos, y reduciendo así significativamente los síntomas causados por el parásito ⁽¹³⁾.

4. Justificación

Blastocystis sp. es el parásito con mayor prevalencia en todo el mundo. En países desarrollados se encuentra presente en un porcentaje considerablemente bajo, mientras que en países en vías de desarrollo se presenta con porcentajes elevados. Debido a que los tratamientos convencionales no poseen alto grado de efectividad y algunos de ellos llegan a causar efectos adversos, se pretende con el presente trabajo probar el trimetoprim con sulfametoxazol en la erradicación de *Blastocystis sp.* para ser utilizado como alternativa en el tratamiento de dicho parásito.

5. Planteamiento del problema.

Siendo *Blastocystis sp.* el parásito más frecuentemente encontrado en muestras de materia fecal, no existe un medicamento que sea capaz de erradicarlo, ya que se han visto fallas en el tratamiento convencional con antiparasitarios como metronidazol y secnidazol. Una de las alternativas para erradicar al parásito reportadas en otros países es el trimetoprim con sulfametoxazol, medicamento que no se ha probado en nuestro país como antiparasitario, por lo que se pretende conocer la efectividad del mismo.

6. Objetivos

6.1 Objetivo general

Evaluar la eficacia del trimetoprim con sulfametoxazol para la erradicación de *Blastocystis sp.* en escolares.

6.2 Objetivos específicos

1. Determinar la frecuencia del parásito *Blastocystis sp.*
2. Determinar el grado de erradicación en parasitosis única y asociada a comensales con trimetoprim con sulfametoxazol en niños del Hospital Infantil de Morelia y Escuela Primaria Rural “Profesor Rafael Ramírez”.
3. Identificar efectos adversos en los niños de ambas instituciones (Hospital Infantil de Morelia y Escuela Rural Federal “Profesor Rafael Ramírez”) que recibieron como tratamiento trimetoprim con sulfametoxazol

7. Material y Métodos

Este es un estudio de tipo prospectivo experimental, fue realizado en el Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del Morelia “Eva Sámano de López Mateos”.

Este estudio fue realizado en niños aparentemente sanos que asisten a de la Escuela Primaria Rural Federal “Rafael Ramírez” ubicada en el municipio de San Pascual, Municipio de Morelia, Michoacán (Fig. 6), así como en niños remitidos del servicio de consulta externa del Hospital Infantil de Morelia con síntomas gastrointestinales, que presentaran positividad a *Blastocystis sp.* sólo o acompañados con comensales después de un estudio coproparasitoscópico en serie.



Figura 6. Perímetro de la Escuela Primaria Rural Federal “Profesor Rafael Ramírez” ubicada en San Pascual, Michoacán. Nótese la urbanización solo en el frente de la escuela mientras que en el costado de las instalaciones se puede apreciar la calle sin pavimentar y en condiciones de poca limpieza.

Con la finalidad de sensibilizar a la población, se llevó a cabo una charla informativa con los padres de los alumnos de la Escuela Rural “Profesor Rafael Ramírez” acerca del impacto de las parasitosis (Fig. 7), entregándole a cada padre de familia un tríptico informativo (anexo 1); mientras que a los pacientes de consulta externa, el médico les proporcionó dicha información.



Figura 7. Padres de familia en plática de sensibilización. Se Muestra el patio de la escuela con los padres de familia y alumnos escuchando la plática informativa acerca de las parasitosis y su impacto, misma que fue realizada por el personal del Hospital Infantil de Morelia.

Se les hizo la invitación a participar dentro del estudio a aproximadamente 300 padres de familia de la Escuela Primaria Rural Federal “Prof. Rafael Ramírez”, se repartieron 250 paquetes de material para la recolección de muestras (2 frascos con formol, 1 frasco limpio, 3 abatelenguas e instrucciones para la recolección y almacenamiento de muestras) (Fig.8).



Figura 8. Entrega del material e información para la toma de muestras. Padre de familia acompañado de su hija, alumna de la Escuela “Profesor Rafael Ramírez”, recibiendo del personal del Hospital infantil de Morelia el materia e indicaciones acerca de la correcta recolección de las muestras.

A los niños tanto de la Escuela como del servicio de consulta externa del Hospital se les proporcionaron por escrito las indicaciones para una correcta toma de las muestras (Anexo 2).

Al recibir las muestras, a los niños se les hizo una encuesta para conocer síntomas gastrointestinales y molestias cutáneas. (Fig. 8, Anexo 3).



Figura 8. Alumna llevando muestras al personal del laboratorio. En esta imagen se muestra a una de las alumnas de tercer año llevando sus propias muestras y las de su hermano menor para entregarlas al personal del Hospital Infantil de Morelia, la alumna mencionó que su mamá estaba enferma, razón por la cual ella presentaba las muestras, demostrando el interés de los niños de la Escuela por su propia salud.

Se solicitó mediante consentimiento informado (Fig. 9, Anexo 4) la autorización de los padres para que sus hijos participaran en el estudio, explicándoles los posibles beneficios y riesgos del mismo, las medidas de atención en caso de presentarse un efecto adverso, garantizando el anonimato y la confidencialidad de la información. Se atendieron los aspectos éticos establecidos en el reglamento de salud en materia de investigación institucional, siendo aprobada esta investigación por el comité de investigación y ética del Hospital Infantil de Morelia, así como de los preceptos de la Asociación Médica Mundial relativos a la bioética en la investigación para la salud.



Figura 9. Entrega de consentimiento escrito e información detallada de la investigación. Padres de familia recibiendo la información acerca de los beneficios y riesgos del mismo, medidas de atención en caso de presentarse algún efecto adverso y firmando el consentimiento de participación en la investigación.

Por lo que se incluyeron en el estudio niños y niñas de dichas instituciones, a los cuales se les diagnosticó *Blastocystis sp.* en parasitosis únicas y mixtas; de igual forma que hayan dado su consentimiento por escrito para participar en el estudio, que hayan recibido el tratamiento con trimetoprim con sulfametoxazol y proporcionado muestras para el examen coproparasitológico de control respondiendo una encuesta para conocer si se presentaron efectos secundarios.

Se excluyeron aquellos que no dieron el consentimiento autorizado por el padre o tutor y aquellos con *Blastocystis* asociado a parásitos patógenos. Fueron eliminados también los pacientes que no completaron el tratamiento, que no entregaron sus muestras para el análisis de control post tratamiento, con datos incompletos o sin encuesta.

De los 250 participantes sólo 111 alumnos accedieron al primer estudio coproparasitológico en serie. Se colectaron muestras de los pacientes de consulta externa del Hospital Infantil de Morelia remitidos al laboratorio de Microbiología y Parasitología siendo incluidos en este estudio 9, teniendo en total 120 pacientes.

Los niños portadores de *Blastocystis sp.* en parasitosis únicas o asociadas con comensales fueron tratados con 10 mg por Kg de peso de trimetoprim con Sulfametoxazol por diez días; de igual forma, a los pacientes que no presentaban parasitosis por *Blastocystis sp.* se les prescribió el medicamento adecuado para la erradicación del o los agentes causales de las parasitosis según fuera el caso.



Figura 10. Entrega de resultados de coproparasitoscópico y receta médica. Madre de familia recibiendo los resultados de los análisis por escrito y personal del Hospital Infantil de Morelia resolviendo dudas de los padres de familia acerca de las recetas medicas.

Quince días después de terminado el tratamiento se realizó examen coproparasitoscópico de control según los criterios dictados por la Federación Latinoamericana de Parasitología⁽⁴⁸⁾, y así evaluar la erradicación del parásito, proporcionando el material y las indicaciones por escrito para la correcta recolección de las muestras.

Las muestras pre y post tratamiento fueron procesadas por examen directo en fresco, concentración por sedimentación (Técnica de Ritchie) y por flotación (Técnica de Faust) y tinción de Kinyoun (anexo 5).

Los datos obtenidos fueron concentrados en Excel (Microsoft) y se presentan en gráficos y tablas usando porcentajes. El método estadístico de Fisher⁽⁴⁹⁾ fue utilizado como prueba de significancia con $p < 0.05$ (anexo 6).

8. Resultados

De los 250 niños de la escuela primaria que aceptaron inicialmente participar en el estudio, solo 120 colectaron correctamente sus muestras (48%). De estos, el 68% cursaba con alguna parasitosis, mientras que el 32% resultaron negativos (Figura 11).

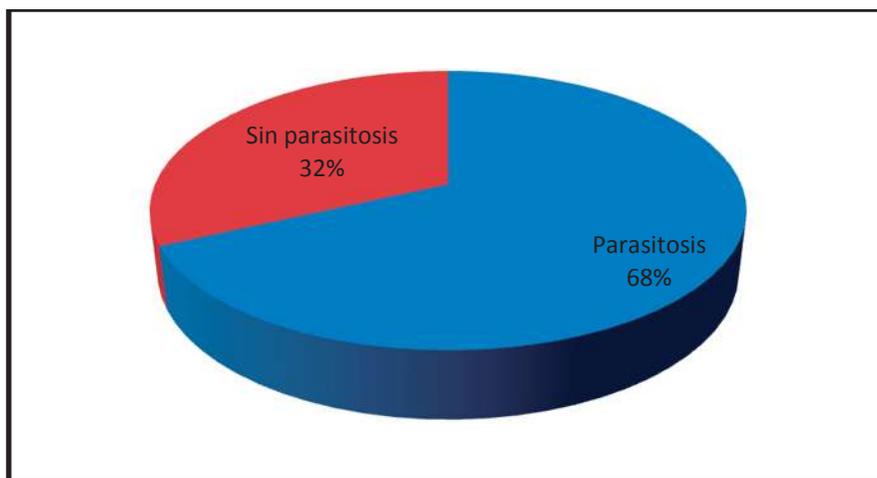


Figura 11. Frecuencia de parasitosis en la Escuela Primaria "Profesor Rafael Ramírez"

2% de los niños tenían parásitos comensales, 23% patógenos y 75% patógenos asociados a comensales (Figura 12).

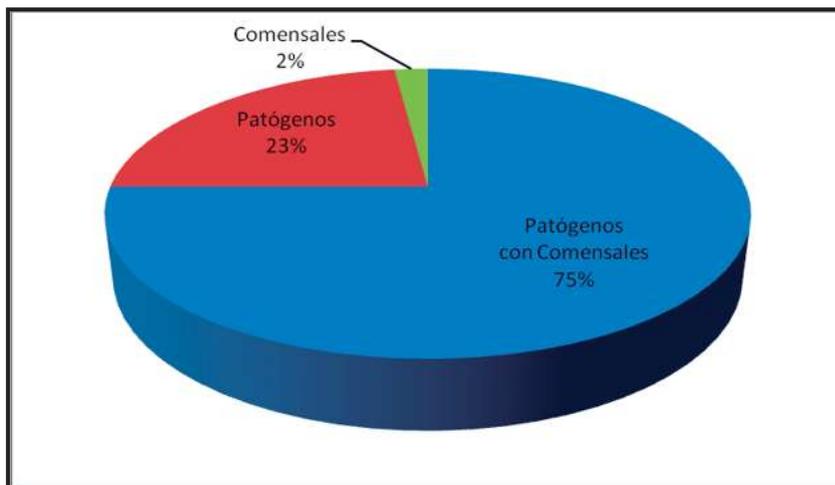


Figura 12. Distribución de parásitos comensales y patógenos.

Blastocystis sp. fue el parásito más frecuente, seguido de *Entamoeba coli* y *Endolimax nana* (Figura 13).

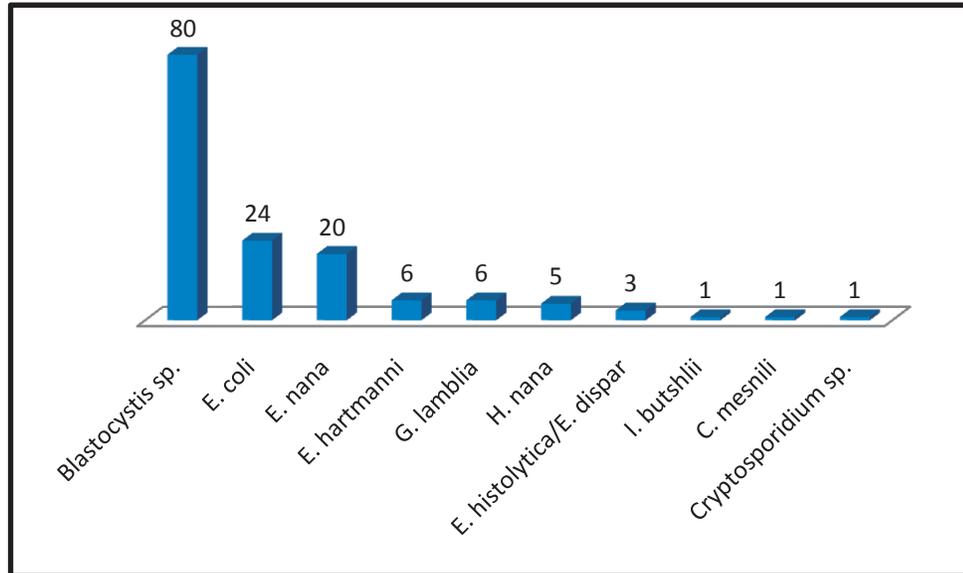


Figura 13: Distribución de los diferentes parásitos y número de casos.

Blastocystis sp. se encontró como único agente en un 54%, asociado a comensales en 30% y en 16% a patógenos y/o patógenos-comensales (Fig. 14)

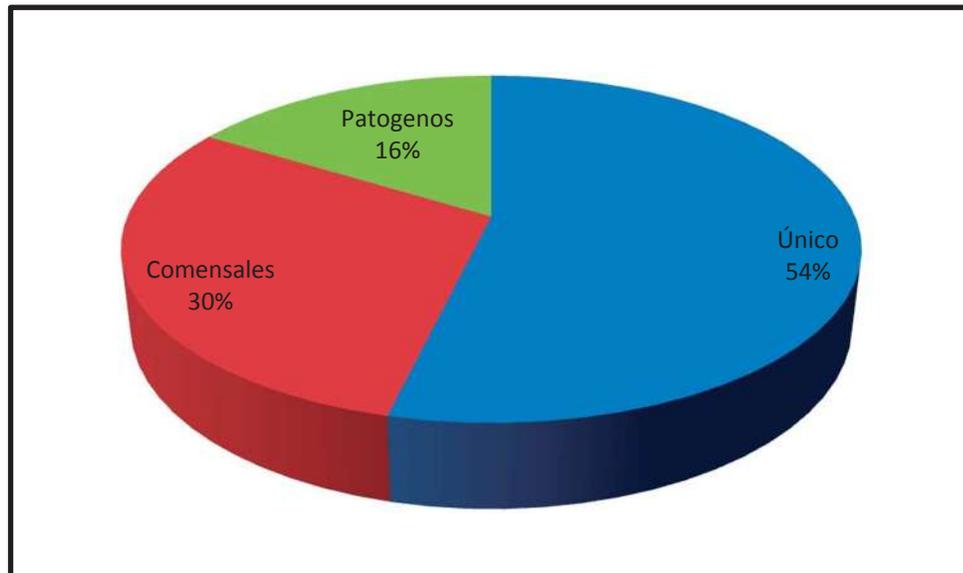


Figura 14: Distribución de *Blastocystis sp.* como parasitosis única y asociada con comensales y patógenos

Entamoeba coli fue el parásito más frecuentemente asociado con *Blastocystis sp.* seguido de *Endolimax nana* (Tabla 1).

Tabla 1: Asociación de *Blastocystis sp.* con otros parásitos.

Agente etiológico	Frecuencia	%
<i>Entamoeba coli</i>	22	34.9
<i>Endolimax nana</i>	20	31.7
<i>Entamoeba hartmanni</i>	6	9.5
<i>Giardia lamblia</i>	5	7.9
<i>Hymenolepis nana</i>	4	6.3
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	3	4.7
<i>Iodamoeba butshli</i>	1	1.5
<i>Chilomastix mesnili</i>	1	1.5
<i>Cryptosporidium sp</i>	1	1.5

Con la finalidad de evaluar la efectividad del medicamento, 9 pacientes atendidos en el hospital y 23 alumnos de la escuela rural que recibieron el tratamiento con trimetoprim con sulfametoxazol fueron incluidos en el análisis, siendo en total 32 niños; fueron eliminados 5 porque en el estudio de control aparecieron otros parásitos patógenos incluyendo a *Blastocystis*, por lo que sólo 27 se contemplaron en la prueba estadística de Fisher. En los 27 niños el 63% de las muestras de control fueron negativas, mientras que en el 37% restante el parásito no fue erradicado (Fig. 15).

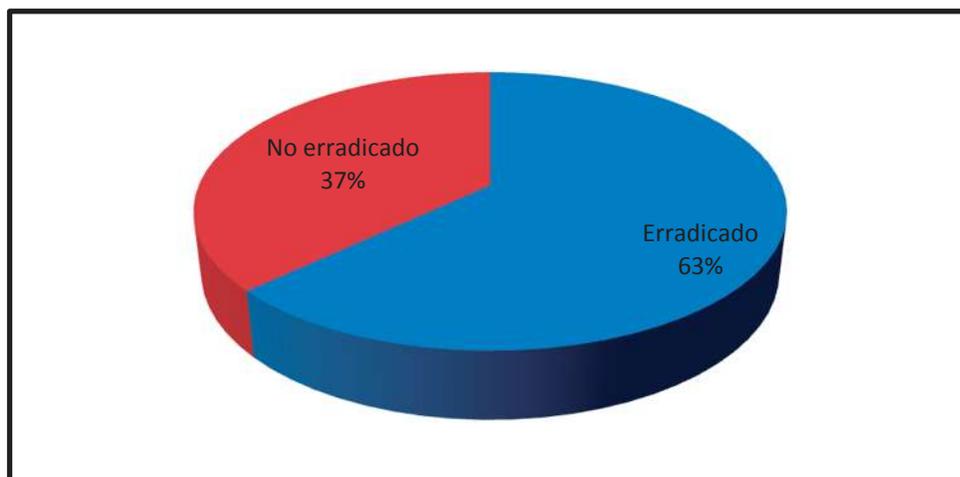


Figura 15. Grado de erradicación de *Blastocystis sp.* con trimetoprim con sulfametoxazol.

Fue aplicada la prueba de Fisher (anexo 6) para conocer el grado de eficacia de trimetoprim con sulfametoxazol para la erradicación de *Blastocystis sp.* en parasitosis única y asociado con comensales (Tabla 2).

Tabla 2: Erradicación de *Blastocystis sp.* en parasitosis únicas y mixtas.

Resultado	Erradicado		No Erradicado		Total
	(número de pacientes)	%	(número de pacientes)	%	
Único	12	71%	4	40%	16
Mixto	5	29%	6	60%	11
Total	17	100%	10	100%	27

Al calcular el error de tipo alfa con un valor de $Z_{0.05}=1.96$, obtuvimos una cifra mayor, por lo que existe diferencia estadísticamente significativa, rechazando la hipótesis nula formulada en términos de que no hay discrepancia en la frecuencia de erradicación de *Blastocystis* solo o asociado a comensales; por lo que se deduce que existen diferencias en la eficacia de este medicamento al emplearlo en parasitosis únicas o mixtas.

Solo en un caso la madre de un alumno de la escuela primaria refirió que el niño presentó ronchas después del tercer día de la administración del medicamento, hecho que no se comprobó.

9. Discusión

En el presente trabajo se encontró una frecuencia de parasitosis del 68% en todos los pacientes analizados. Análisis de poblaciones escolares con resultados similares como la de Al Rumhein y colaboradores en Venezuela demuestran que el 97.4% estaba parasitada, de la misma forma Velarde y colaboradores en San Luis Potosí reportan un 54.25%^(21,50).

Núñez y colaboradores (2003) describieron en un hospital pediátrico de la Habana, Cuba que el 24.7% de los pacientes tienen comensales, un 15.7% patógenos y el 34.4% tenían tanto patógenos como comensales. En este estudio 2% de los niños con parásitos tenían comensales, 23% patógenos y 75% patógenos y comensales⁽⁵¹⁾.

Blastocystis sp. fue el parásito más encontrado seguido de *Entamoeba coli*, datos similares son reportados por Al Rhumhein y colaboradores (2003)⁽⁵¹⁾, y por Salomón y colaboradores (2007) en Mendoza, Argentina reportan a *Blastocystis sp.* en un 54%, siendo el parásito más frecuente⁽⁵²⁾.

Blastocystis sp. se encontró como único agente en un 54% de los casos, en el estado de Guerrero, Rodríguez y colaboradores analizando sólo una muestra de excremento reportan que el 90% de escolares analizados tenían al *Blastocystis sp.* en parasitosis única⁽⁵³⁾.

Sólo en el 63% de los niños se logró la erradicación del parásito, mientras que en el 37% el medicamento no tuvo efecto. Ok Üigen y colaboradores (1999) en Singapur, consiguieron un 94.7% en niños y 93.3% en adultos de curación; esta aparente diferencia en la efectividad del tratamiento, puede ser debida a los pocos niños incluidos en nuestro trabajo (27 individuos), siendo que Ok Üigen y colaboradores trabajaron con un mayor número de pacientes (39 niños y 15 adultos)⁽¹³⁾.

Por otra parte, Moghaddam y colaboradores (2005) compararon metronidazol con trimetoprim con sulfametoxazol, obteniendo 30% y 22.2% de erradicación, respectivamente, concluyendo que ambos medicamentos son eficaces en algunos pacientes pero no en todos⁽¹²⁾.

Se evidencia en este trabajo la diferencia en el tratamiento con trimetoprim con sulfametoxazol para erradicar a *Blastocystis sp.* cuando está como único parásito o acompañado de comensales. Debido a que el mecanismo de acción de dicho fármaco contra bacterias y protozoarios, es inhibir enzimas productoras de proteínas y ácidos nucleicos propias de dichos microorganismos, se piensa que los parásitos comensales interfieren en dicho mecanismo, haciendo que la dosis no sea suficiente para la erradicación de *Blastocystis sp.* y de los otros parásitos asociados.

10. Conclusiones

- *Blastocystis sp.* es el parásito más encontrado en los niños estudiados en la Escuela Primaria Rural “Profesor Rafael Ramírez” y en el Hospital Infantil de Morelia
- Trimetoprim con sulfametoxazol es una alternativa para la erradicación de *Blastocystis sp.* cuando es el único parásito encontrado en estudios coproparasitológico y se considera que otras opciones como metronidazol tienen mayor riesgo de efectos adversos, la eficacia de ambos no es superior al 95%, al igual que con el secnidazol.
- Trimetoprim con sulfametoxazol erradicó al parásito *Blastocystis sp.* en dos terceras partes de los niños estudiados (63%), su eficacia fue mayor en parasitosis única (75%), mientras que asociado a comensales tiene poca efectividad, ya que sólo erradicó el 45% de los casos, por lo tanto es una alternativa de tratamiento contra el parásito.

11. Recomendaciones.

Se recomienda a las Organizaciones y Secretarías encargadas de impartir los servicios de salud pública:

Realizar campañas de información a la población a fin de concientizarla acerca de las parasitosis y crear un sentido de responsabilidad, que permita reducir la frecuencia de las enfermedades causadas por estos microorganismos, al igual que promover la participación de la población en programas y campañas de salud.

Analizar las características de cada uno de los medicamentos, ya que trimetoprim con sulfametoxazol es administrado por diez días lo cual conlleva al incumplimiento del tratamiento, en comparación con secnidazol que es en una sola dosis, el metronidazol posee más efectos adversos y finalmente el trimetoprim con sulfametoxazol es más accesible económicamente que otros.

Continuar con este estudio, ya que la muestra poblacional examinada tan pequeña limita la confiabilidad de los resultados.

12. Bibliografía.

1. [Http://Www.Dgepi.Salud.Gob.Mx/Boletin/2009/Sem35/Pdf/Cua4.3.Pdf](http://Www.Dgepi.Salud.Gob.Mx/Boletin/2009/Sem35/Pdf/Cua4.3.Pdf)
2. - Kevin S. W. Tan; **New Insights On Classification, Identification And Clinical Relevance Of Blastocystis Spp.**; Clinical Microbiology Reviews 2008;21(4): 639-665
3. Alger J.; **Blastocystis Hominis ¿Comensal O Patógeno? Revisión De La Evidencia**; Servicio De Parasitología Departamento De Laboratorios Clínicos. Hospital Escuela Ministerio De Salud Pública, Tegucigalpa, Honduras. Disponible en: [Http://Www.Bvs.Hn/Rmh75/Pdf/1997/Pdf/Vol65-4-1997-6.Pdf](http://Www.Bvs.Hn/Rmh75/Pdf/1997/Pdf/Vol65-4-1997-6.Pdf)
4. [Http://Www.Who.Int/Water_Sanitation_Health/Gdwqrevision/Phe_Wsh_Blasty_Fact%20_Sheet.Pdf](http://Www.Who.Int/Water_Sanitation_Health/Gdwqrevision/Phe_Wsh_Blasty_Fact%20_Sheet.Pdf)
5. [Http://Www.Dgepi.Salud.Gob.Mx/Boletin/2009/Sem35/Pdf/Cua4.3.Pdf](http://Www.Dgepi.Salud.Gob.Mx/Boletin/2009/Sem35/Pdf/Cua4.3.Pdf)
6. Salinas J, Vildoza H.; **Infección Por Blastocystis**; Revista De Gastroenterología De Perú 2007;27: 264-274.
7. Hareesh, K.; Suresh, K.; Anuar, A. Khairul; Saminathan, S.; **Isolate Resistance Of Blastocystis Hominis To Metronidazole**; Tropical Medicine & International Health 1999;4(4):274-277.
8. Pérez-Trallero E.; Iglesias L.; **Tetraciclinas, Sulfamidas Y Metronidazol**; Enfermedades Infecciosas, Microbiología Clínica 2003;21(9):520-529
9. Guzman C. ;Vethencourt M. ;Galindo M.; Chacon N. ;Wagner C.; Nessi A.; **Comportamiento Biológico De Blastocystis Hominis En Pacientes Tratados Con Secnidazol (Unidazole)**; Revista De La Sociedad Venezolana De Microbiología. 2008; 28:66-71.
10. Rodríguez R.;Aguilar A; Puig P; **Nitazoxanida: Reacciones Adversas; Cartas Al Editor**; Salud Pública México 2004; 46(6):496
11. Stockis A, Allemon Am, De Bruyn S, Gengler C.; **Nitazoxanide Pharmacokinetic And Tolerability In Man Using Single Ascending Oral Doses.** Int J Clin Pharmacol Ther 2002; 40(5):213-220.
12. Moghaddam D, Ghadirian E.; Azami M.; **Blastocystis Hominis And The Evaluation Of Efficacy Of Metronidazole And Trimethoprim/Sulfamethoxazole** ; Parasitology Research 2005;96(4): 273-275.
13. Ok Ülgen., Girginkardesler N., Balcioglu C.; Ertan P., Pirildar T., Kilimcioglu A.; **Effect Of Trimethoprim-Sulfamethaxazole In Blastocystis Hominis Infection**; American Journal Of Gastroenterology 1999; 94(11): 3245–3247.
14. Zierdt C.; **Blastocystis Hominis-Past And Future**; Clinical Microbiologu Reviews1991; 4(1);:61-79.
15. Stensvold C, Alfellani M.; **Subtype distribution of Blastocystis isolates from synanthropic and zoo animals and identification of a new subtype**; Int J Parasitol. 2009 Mar;39(4):473-9
16. Salinas, J.L.; **Current Status Of Blastocystis Terminology; Letter To The Editor**; Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 2009; 51(2):117-118.
17. Stensvold Cr, Suresh Gk, Tan Ks, Thompson Rc, Traub Rj, Viscogliosi E, Yoshikawa H, Clark Cg. **Terminology For Blastocystis Subtypes**;A Consensus Trends Parasitol 2007; 23(3):93-6.

18. Patrick W., Marilyn M., Richard G., Eileen M.; **Epidemiology and Pathogenicity of *Blastocystis hominis***; Journal Of Clinical Microbiology 1990; 28(1): 116-121.
19. Daniel J., Raucher B., Mckitrick C.; **Association Of *Blastocystis Hominis* With Signs And Symptoms Of Human Disease**; Journal Of Clinical Microbiology 1986; 24(4):548-550.
20. Mendoza A., Mier M., Alarcón E.; **Prevalencia De *Blastocystis Hominis* En Niños De Edad Preescolar Y Escolar De La Localidad De Tixtla De Guerrero, Gro., México**; Disponible en: <http://investigacion.uagro.mx/3coloquio/med/3.pdf>
21. Velarde del Rio T., Mendoza M.; **Prevalencia De *Blastocystis Hominis* En Menores De 12 Años De Una Población Mexicana Urbana**; Rev Cubana Pediatr 2006; 78(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75312006000400006&script=sci_abstract
22. Cruz V., Plancarte A., Morán C., Valencia s., Rodríguez G., Vega L.; ***Blastocystis Hominis* Among Food Vendors In Xochimilco Markets**; Revista Latinoamericana de Microbiología 2003; 45(1): 12-15.
23. <http://www.elmedicointeractivo.com/farmacia/temas/tema13-14/bases5.htm>
24. http://www.med.unne.edu.ar/catedras/farmacologia/temas_farma/volumen3/cap33_sulfyquinol.pdf
25. <http://www.prvademecum.com/PRData/NEWPrincipioActivo.asp?D=2726>
26. Kennedy C., Pimentel A., Lewis E., Anderson D., Weiss J., Oldfield C.; **Crossover Of Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients From Aerosolized Pentamidine To Trimethoprim-Sulfamethoxazole : Lack Of Hematologic Toxicity And Relationship Of Side Effects To Cd4⁺ Lymphocyte Count.** The Journal Of Infectious Diseases 1993, 168 (2): 314-317
27. Kocak Z., Ataman C., Ertem G., Kinikli S., Tufan A., Irmak H., Pekcan A.; **Trimethoprim-Sulfamethoxazole Induced Rash And Fatal Hematologic Disorders**; Journal Of Infection 2006;52(2):E49-E52
28. Zierdt C., Donnelly C., Muller J., Constantopoulos G.; **Biochemical And Ultrastructural Study Of *Blastocystis hominis*.**; Journal Of Clinical Microbiology 1988;26(5): 965-970
29. Aguirre A.; **Aportaciones Sobre La Ultraestructura De *Blastocystis hominis*; Ensayo Bibliográfico**; Escuela Nacional De Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional 2003; Disponible en: <http://www.pacal.org/Datos/Documentos/blastosistishominis.pdf>
30. Suresh K., Venilla GD., Tan TC., Rohela M.; **In vivo encystation of *Blastocystis hominis*.** Parasitol Res. 2009; 104(6):1373-80.
31. Cruz R.A., Camargo C.B., **Glosario de términos en Parasitología y Ciencias afines, Plaza y Valdés editores.** Disponible en: http://books.google.com.mx/books?id=XGvE8H0USA4C&printsec=frontcover&source=gb_s_v2_summary_r&cad=0#.
32. Cárdenas S M, Martínez R. **Protozoarios parásitos de importancia en salud pública transportados por mosca domestica linnaeus en Lima Perú.** Rev Perú biol 2004; 11(2): 149-153.
33. Dorostkar M., Ghadirian E., Azami M. ***Blastocystis hominis* and the evaluation of efficacy of metronidazole and trimethoprim/sulfamethoxazole**; Parasitol Res 2005; 96: 273-275.

34. Devera R., Cermeño J., **Prevalencia de Blastocystis y otras parasitosis intestinales en una comunidad rural del estado Anzoategui, Venezuela**; Parasitol Latinoam 2003; 58(3): 95 - 100,
35. Hirata, T., H. Nakamura, N. Kinjo, A. Hokama, F. Kinjo, N. Yamane, J. Fujita. **Prevalence of Blastocystis hominis and Strongyloides stercoralis infection in Okinawa, Japan.** Parasitol. Res 2007. 101:1717–1719.
36. Horiki, N., M. Maruyama, Y. Fujita, T. Yonekura, S. Minato, and Y. Kaneda. **Epidemiologic survey of Blastocystis hominis infection in Japan.** Am. J. Trop. Med 1997. 56:370–374.
37. Wong, K. H., G. C. Ng, R. T. Lin, H. Yoshikawa, M. B. Taylor, and K. S. Tan. 2008. **Predominance of subtype 3 among Blastocystis isolates from a major hospital in Singapore.** Parasitol. Res 2008. 102:663–670.
38. Martin A., Canut A., Rodriguez J.; **Epidemiology and clinical significance of Blastocystis hominis in different population groups in Salamanca (Spain)**; Eur. J. Epidemiol. 1992; 8(4):553-559.
39. Amin O.; **The epidemiology of Blastocystis hominis in United States**; Research Journal of Parasitology; 2006;1(1):1-10.
40. Rhongbutsri P.; **Seasonal Prevalence of Blastocystis hominis among Patients Attending Thammasat Chalermprakiat Hospital, Pathum Thani Province, Thailand**; J Trop Med Parasitol 2005;28(1):39-42.
41. Bernal R., Alvarado L., Suarez B.; **Proteases of Blastocystis hominis in Mexican children**; international Journal of Infectious Diseases 2008;12(1):e332.
42. Devera R., Mago Y., Rumhein F.; **Parasitosis intestinales y condiciones socio-sanitarias en niños de una comunidad rural del Estado Bolívar, Venezuela**; Rev Biomed 2006; 17(4):311-313.
43. Basualdo, J. A., M. A. Cordoba, M. M. de Luca, M. L. Ciarmela, B. C. Pezzani, M. S. Grenovero, and M. C. Minvielle.. **Intestinal parasitoses and environmental factors in a rural population of Argentina, 2002–2003.** Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 2007. 49:251–255.
44. Aguiar, J. I., A. Q. Goncalves, F. C. Sodre, R. Pereira Sdos, M. N. Boia, E. R. de Lemos, and R. R. Daher. **Intestinal protozoa and helminthes among Terena Indians in the State of Mato Grosso do Sul: high prevalence of Blastocystis hominis.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop 2007. 40:631–634.
45. Escobedo, A. A., R. Canete, and F. A. Nunez. **Intestinal protozoan and helminth infections in the Municipality San Juan y Martinez, Pinar del Rio, Cuba.** Trop. Doct 2007. 37:236–238.
46. Muñoz V., Frade C., Aguirre C.; **Elevada prevalencia de Blastocystis hominis en manipuladores de alimentos de los mercados públicos de la zona sud de la ciudad de La Paz**; Rev. Cuadernos 2006; 51 (2): 16-24.
47. Nadham K., Sarkis K.; **The Effectiveness of Metronidazole, Praziquantel and Co-Trimoxazole on Blastocystis hominis**; Iraqi Journal of Gastro-enterology, 2005; 11(5): 82-85.
48. www.flap.org
49. http://www.fisterra.com/mbe/investiga/signi_estadi/signi_estadi.asp

50. Al Rumhein F., Sánchez J., Requena I., Blanco Y, Devera R.; **Parasitosis intestinales en escolares: relación entre su prevalencia e heces y en el lecho subungueal.** Rev Biomed 2005; 16: 227-237.
51. Núñez F., González O., Bravo R., Escobedo A., González I.; **Parasitosis intestinales en niños ingresados en el Hospital Universitario Pediátrico del Cerro, La Habana, Cuba;** Rev Cubana Med Trop 2003;55(1):19-26
52. Salomon M., Tonelli R., Borremans C., Bertello D., De Jong L., Jofré C., Enriquez V, Carrizo L., Costamagna S.; **Prevalencia de parásitos intestinales en niños de la ciudad de Mendoza, Argentina; Parasitol Latinoam 2007; 62(1):49 – 53.**
53. Rodríguez E., Mateos B., González C., Aguilar Y., Alarcón E.; **Transición parasitaria a *Blastocystis hominis* en niños de la zona centro del estado de Guerrero, México.** Revista de Parasitología Latinoamericana. 2008; 63: 20-28.
54. Aguiar, J. I., A. Q. Goncalves, F. C. Sodre, R. Pereira Sdos, M. N. Boia, E. R. de Lemos, and R. R. Daher. **Intestinal protozoa and helminthes among Terena Indians in the State of Mato Grosso do Sul: high prevalence of *Blastocystis hominis*.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop 2007. 40:631–634.
55. Orozco M.G. E. **Manual de Procedimientos de Parasitología Laboratorio de Investigación en Microbiología y Parasitología.** Hospital Infantil de Morelia “Eva Sámano de López Mateos”. Secretaría de Salud de Michoacán 2008:4-9

13. Anexos.

13.1 Anexo 1. Formato informativo

¡El Hospital Infantil de Morelia te ofrece este servicio y es gratuito!

Solo tienes que:

- 1) **23 de febrero:** Recibirás un consentimiento y frascos para recolectar las muestras.
- 2) **Del 23 al 29 de febrero:** Recolectar muestras.
- 3) **1° de marzo:** Entregar frascos con muestras y consentimiento (firmado por el padre o tutor) al personal del Laboratorio.
- 4) **15 de Marzo:** Recibirás resultados, receta médica y nuevos frascos.
- 5) **16 de Marzo:** Este día se comienza a tomar el medicamento.
- 6) **8 de abril:** Colectar nuevas muestras (de la misma manera que se recolectaron en el inciso 2)
- 7) **27 de abril:** Recibir resultados finales.

Aquí termina el compromiso del Personal del laboratorio.

Como recolectar las muestras de excremento.

Se requieren dos muestras con conservador y una fresca.

El personal del laboratorio te dará dos frascos con conservador (Formol 10%).

Muestras con Conservador:

Se debe colocar un pedazo de excremento del tamaño de una nuez en el frasco con formol. Mezclar perfectamente con el abatelenguas hasta dejar consistencia de un atole espeso. Repetir procedimiento hasta completar dos muestras (de días diferentes)

Muestra fresca:

Colocar un pedazo de excremento del tamaño de una nuez en el frasco limpio.

Las muestras pueden ser de cualquier hora del día, no deben extraerse de la taza del baño ni recogerse del suelo. No es necesario el ayuno.

HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA "EVA SAMANO DE LOPEZ MATEOS"

LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA.



TRIMETROPRIM PARA LA ERRADICACION DE *BLASTOCYSTIS SP.* EN ESCOLARES

Laboratorio de Investigación de Microbiología y Parasitología del HIM.

Tel. 3122520 ó 3122521; Ext. 209.

Este folleto fue elaborado por:

QFB. Guadalupe Erendira Orozco Mosqueda

QFB. Diego Josimar Hernández Silva

¿Puedo tener parásitos?

Los parásitos son animales muy pequeños que algunas veces viven dentro de nosotros.

¿Cómo se transmiten?

- * Al comer alimentos de dudosa higiene.



- * Tener manos y uñas sucias.



- * Tomar agua de la llave.



- * Caminar descalzo.



- * Contacto con animales.



- * Entre otros...

Y nos ocasionan...

- * Dolor de cabeza.



- * Dolor abdominal.



- * Comezón en el ano.



- * Diarrea.



- * Nauseas.



- * Y mas...

¿Qué debemos hacer?

Acudir con el médico, el manda realizar estudios...



... y proporciona el medicamento adecuado para que ya no estén dentro de nuestro cuerpo.



13.2 Anexo 2. Indicaciones para coleccionar las muestras de excremento

Cómo coleccionar las muestras de materia fecal para el programa “trimetoprim con Sulfametoxazol para la erradicación de *Blastocystis sp.* en escolares”.

Se requieren dos muestras con conservador y una fresca.

El personal del laboratorio te dará dos frascos con conservador (Formol 10%).

Muestras con Conservador:

Se debe colocar un pedazo de excremento del tamaño de una nuez en el frasco con formol. Mezclar perfectamente con el abatelenguas hasta dejar consistencia de un atole espeso. Repetir procedimiento hasta completar dos muestras (de días diferentes)

Muestra fresca:

Colocar un pedazo de excremento del tamaño de una nuez en el frasco limpio, la cual no debe de tener más de 24 horas de haber sido evacuada.

Las muestras pueden ser de cualquier hora del día, no deben extraerse de la taza del baño ni recogerse del suelo. No es necesario el ayuno.

13.3 Anexo 3. FORMATO DE CONSENTIMIENTO PARA LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO CON TRIMETROPIM CON SULFAMTOXAZOL.

Hospital Infantil de Morelia

“Eva Sámano de López Mateos”

Laboratorio de Investigación en Microbiología y Parasitología

Escuela Primaria Rural Federal “Profesor Rafael Ramírez”

HOJA DE CONSENTIMIENTO PARA LA ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO CONTRA EL PARÁSITO *Blastocystis sp.*

Nombre del paciente: _____ Edad: _____ Peso: _____

Manifiesto que he recibido asesoría acerca de la infección parasitaria producida por *Blastocystis sp.*, y sus ventajas del tratamiento para erradicar este parásito.

Por lo tanto doy mi consentimiento para que le sea administrado a mi Hijo(a) el tratamiento antiparasitario adecuado contra *Blastocystis sp.*

PACIENTE

Firma y/o nombre del padre o tutor

Fecha

MÉDICO RESPONSABLE

Firma y/o nombre

Fecha

INVESTIGADOR RESPONSABLE

Firma

Fecha

Q.F.B. Gpe. Eréndira Orozco Mosqueda

	1	2	3	4	5	6
Antes						
Después						

1. Diarrea. 2. Nausea. 3. Vomito. 4. Dolor abdominal. 5. Rash cutáneo 6. Urticaria.

13.5 Anexo 5. Técnicas parasitológicas.

A) Examen Directo en Fresco:

Material:

- Porta objetos 7.5 X 2.5 cm
- Cubre objetos 22 X 22 mm
- Aplicadores de madera
- Hisopos
- Pipeta Pasteur con bulbo de goma
- Parafina-vaselina 1:1

Reactivos:

- Solución salina isotónica 0.85% (ssi)
- Solución yodo-lugol
- Frasco con cloro para descartar el material.

Preparación de reactivos:

Solución de yodo lugol

Yodo (cristales)	5 gramos
Yoduro de potasio	10 gramos
Agua destilada	100 ml
Para uso diluir 1:5	

Equipo:

- Microscopio compuesto
- Parrilla eléctrica para derretir la parafina

Equipo de seguridad personal:

- Bata blanca limpia de manga larga
- Guantes de latex
- Cubreboca

Procedimiento

- 1.- Colocar 1 gota de solución salina isotónica ó yodo lugol en el centro del portaobjetos.
- 2.- Con el aplicador, tomar la muestra, calculando más o menos 1.5 a 2 mg. de heces y hacer una suspensión uniforme con la gota de ssi o yodo-lugol.
- 3.- Cubrir la preparación con el cubreobjetos
- 4.- Con un hisopo limpiar las orillas del cubre objetos para quitar el exceso de muestra.
- 5.- Sellar la preparación con parafina
- 6.- Observar al microscopio con objetivos 10X y 40X.

B) Método de Concentración por Sedimentación con Formol-Éter o Técnica de Ritchie

Material:

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Tubos cónicos de 15 ml
- Pipeta pasteur con bulbo de goma
- Tapones de hule
- Pizeta con agua
- Vasos de plástico de 100 ml
- Embudos de plástico de 5 cm de diámetro
- Gasa en cuadros de 16X16 cm
- Abatelenguas de madera
- Hisopos
- Gradilla
- Parafina-vaselina 1:1

Reactivos:

- Solución de yodo-lugol
- Solución de formol al 10%
- Eter
- Frasco con cloro como desinfectante

Equipo:

- Microscopio compuesto
- Parrilla
- Centrifuga
- Vortex

Equipo de seguridad personal:

- Bata blanca limpia de manga larga
- Guantes de latex
- Cubre bocas

Procedimiento:

- 1.- Con un aplicador, tomar una muestra de heces de aproximadamente 1 ó 2 gramos y hacer una suspensión 3:1 en un baso de plástico.
- 2.- Filtrar a través de gasa húmeda a un tubo cónico de 15 ml. utilizando un embudo de plástico.
- 3.- Centrifugar el tubo a 2,500 rpm durante un minuto
- 4.- Descartar el sobrenadante.
- 5.- Añadir 10 ml. de formol al sedimento y con ayuda de un aplicador agitar perfectamente la muestra y dejar reposar por 5 minutos.
- 6.- Agregar un ml. de éter
- 7.- Tapar el tubo y agitar vigorosamente en el vortex durante 15 segundos.
- 8.- Retirar cuidadosamente el tapón del tubo cónico, realizando esto lejos de la cara.
- 9.- Centrifugar a 2,500 rpm por un minuto.
- 10.- Al final de la centrifugación se obtienen 4 capas: Sedimento, formol, detritus y éter. Con un aplicador desprender el tapón de detritus de todo alrededor y decantar los sobrenadantes de un solo movimiento de tal manera que solo quede el sedimento.
- 11.- Con un hisopo limpiar las paredes del tubo cónico.
- 12.- Mezclar el sedimento con formol y con ayuda de una pipeta pasteur transferir el sedimento a un portaobjetos y agregar una gota de lugol, mezclar perfectamente y colocar un cubreobjetos.
- 13.- Con un hisopo limpiar el exceso de muestra alrededor del cubreobjetos.
- 14.- Sellar la preparación con parafina.
- 15.- Observar al microscopio examinando sistemáticamente la preparación, utilizando el objeto de 10x y posteriormente con el objetivo de mediana resolución para confirmar las estructuras de los quistes.

Las técnicas de sedimentación, se utilizan para la observación de quistes y ooquistes de protozoos, huevos y larvas de helmintos, pero la desventaja de estas técnicas consiste en que los preparados contienen más residuos que los procesados por flotación. En este caso, el éter se usa para extraer los residuos y las grasas de las heces y llevar los parásitos al fondo de la suspensión. Estas técnicas entonces son recomendadas por ser fáciles de realizar, tener baja probabilidad de errores técnicos y recuperar un amplio rango de organismos. (55)

C) Método de Concentración por Flotación con Sulfato de Zinc o Técnica de Faust.

Material:

- Portaobjetos 7.5X2.5 cm
- Cubreobjetos 22X22 mm
- Tubos de ensaye 13X100
- Pipetas pasteur con bulbo de goma
- Matraz Erlenmeyer 500 ml
- Probeta 1000 ml
- Pizeta con agua
- Vaso de plástico de 100 ml
- Embudos de plástico de 5 cm de diámetro
- Gasa en cuadros de 16X16 cm
- Abatelenguas de madera
- Aplicadores de madera
- Hisopos
- Asa bacteriológica con aro de 5mm de diámetro doblada con un ángulo de 90°
- Gradilla
- Parafina-vaselina 1:1

Reactivos:

- Solución de yodo-lugol
- Solución de sulfato de zinc, densidad 1,180
- Frasco con cloro para descartar el material

Preparación de reactivos:

Sulfato de zinc (densidad 1.18)

Sulfato de zinc	331 gramos
Agua destilada	1 litro

Equipo:

- Microscopio compuesto
- Parrilla eléctrica
- Centrifuga
- Densímetro

Equipo de seguridad personal:

- Bata blanca limpia de manga larga
- Guantes de látex

-Cubreboca

Procedimiento:

- 1.- Con un aplicador, tomar una muestra de heces aproximadamente 1 gramo, hacer una suspensión 3:1 con agua en un vaso de plástico pequeño.
- 2.- Filtrar a través de gasa húmeda a un tubo de ensayo utilizando un embudo de plástico.
- 3.- Centrifugar el tubo a 2500 rpm durante un minuto.
- 4.- Descartar el sobrenadante.
- 5.- Añadir nuevamente agua al sedimento y con ayuda de un aplicador agitar perfectamente la muestra.
- 6.- Volver a centrifugar a 2500 rpm por un minuto.
- 7.- Descartar el sobrenadante.
- 8.- Al sedimento se agregan unos pocos mililitros de sulfato de zinc y agitar con un aplicador hasta suspender totalmente el sedimento, agregar más solución de sulfato de zinc hasta un centímetro abajo del borde del tubo de ensayo, sin dejar de agitar.
- 9.- Centrifugar a 2500 rpm durante un minuto.
- 10.- Sacar el tubo cuidadosamente de la centrífuga y colocarlo en la gradilla.
- 11.- Remover una o dos asadas de la película superficial y colocarlas sobre un portaobjetos, esterilizar el asa por flameo.
- 12.- Colocar una gota de yodo lugol.
- 13.- Colocar el cubreobjetos mezclando ambas gotas.
- 14.- Sellar la preparación con parafina.
- 15.- Observar al microscopio examinando sistemáticamente la preparación, utilizando el objetivo de 10X y confirmar con 40X.

Las técnicas de flotación permiten la separación de quistes de protozoos y huevos de ciertos helmintos del exceso de residuos mediante el uso de soluciones con elevada gravedad específica. Los elementos parasitarios son recuperados de la capa superficial y los residuos se mantienen en el fondo del tubo. Con estas técnicas los preparados son más limpios que los obtenidos por sedimentación. Sin embargo, algunos huevos (como los opérculados, o los densos como los estériles de *Ascaris lumbricoides*) no se concentran bien en las flotaciones; en estos casos se recomienda el uso de técnicas de sedimentación. (55)

D) Tinción de Kinyoun

Material:

- Portaobjetos 7.5 x2.5 cm.
- Aplicadores de madera
- Pipetas pasteur con bulbo de goma

Reactivos:

- Carbol-Fucsina
- Acido al 10%
- Verde brillante al 1%

Preparación de Reactivos:

Carbol-fucsina

Fucsina básica	1 gramo
Etanol	10 ml
Fenol	5 ml
Agua cbp	100 ml

- 1.- Fundir el fenol, agregar la fucsina.
- 2.- Homogeneizar en baño maría a 60°C, sacar la mezcla del baño.
- 3.- Agregar el etanol, agitar 5 minutos.
- 4.- Adicionar el agua.
- 5.- Dejar en baño maría 15 minutos para completar la homogenización.
- 6.- Almacenar en frasco oscuro con tapón esmerilado.

Alcohol-ácido

Acido sulfúrico	10 ml
Agua cbp	100 ml

Verde brillante 1%

Verde brillante	1 gramo
Agua cbp	100 ml

Equipo:

- Microscopio compuesto

Procedimiento:

- 1.- Elaborar un frotis de materia fecal con ssi, dejar secar.
- 2.- Fijar con material y al calor.
- 3.- Cubrir la preparación con fucsina básica por 3 minutos. Evitar que la preparación se seque.
- 4.- Enjuagar suavemente con agua la llave.
- 5.- Decolorar con alcohol ácido al 10% por 5 segundos.
- 6.- Colocar verde brillante al 1% por 30 segundos
- 7.- Lavar con agua y dejar secar
- 8.- Observar a inmersión

13.6 Anexo 6. Prueba de Fisher, datos y procedimiento.

H_0 : La frecuencia de erradicación del parásito *Blastocystis sp.* con trimetoprim con sulfametoxazol es igual en parasitosis únicas y asociadas a comensales.

H_a : La frecuencia de erradicación del parásito *Blastocystis sp.* con trimetoprim con sulfametoxazol es diferente en parasitosis únicas y asociadas a comensales.

Resultado Parasitosis	Erradicado		No Erradicado		Total
	(número de pacientes)	%	(número de pacientes)	%	
Único	12	71%	4	40%	16
Mixto	5	29%	6	60%	11
Total	17	100%	10	100%	27

Si $(P_1 - P_2)$ es mayor al producto de $Z_{0.05} \times Error \alpha$ concluimos que la diferencia es estadísticamente significativa.

$$Z_{0.05} = 1.96$$

Entonces:

$$(P_1 - P_2) = .71 - .29 = .4$$

$$P = \frac{P_1 + P_2}{2} = \frac{.71 + .29}{2} = .5$$

$$Error \alpha = \sqrt{P(1 - P)(1/n_1 + 1/n_2)} = \sqrt{.5(1 - .5)(1/16 + 1/11)} = .0383 = .195$$

$$Error \alpha \times 1.96 = .3822$$

La diferencia de $(P_1 - P_2)$ supera al valor del Error α concluimos que la diferencia entre .71 y .29 es estadísticamente significativa, por lo que podemos aceptar la hipótesis alternativa.