



**Alteraciones de la microbiota intestinal de seres humanos en presencia de *Blastocystis*,
Entamoeba histolytica y *Giardia duodenalis***

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico

Trabajo de Grado

Bogotá D.C,

18-10-2024



**Alteraciones de la microbiota intestinal de seres humanos en presencia de *Blastocystis*,
Entamoeba histolytica y *Giardia duodenalis***

Estudiantes:

Natalia Catalina Calderón Gómez

Laura Camila Casas Palacios

Asesor Externo

M.Sc Andrés Camilo González Gómez

Asesor Interno

M.Sc Diana Marcela Parra Muñoz

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Bogotá. D.C

Octubre 11 de 2024



**Alteraciones de la microbiota intestinal de seres humanos en presencia de *Blastocystis*,
Entamoeba histolytica y *Giardia duodenalis***

APROBADA _____

JURADOS _____

ASESORES _____

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico

Trabajo de Grado

Bogotá D.C

Octubre 11 del 2024

DEDICATORIA

Le dedicamos esta tesis a todos aquellos que no dejaron de creer en nosotras, a nuestras familias las cuales han sido nuestro mayor pilar; quienes nos han guiado y apoyado en esta etapa de aprendizaje y que nos han inspirado con sus palabras de aliento y amor incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a nuestros padres por su paciencia, comprensión y apoyo incondicional además de su amor y sacrificio que nos han permitido llegar hasta aquí, a nuestros hermanos por su constante aliento y su compañía en este proceso, a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por llenarnos de conocimiento y aportar las bases para convertirnos en unas profesionales de excelencia.

A nuestros asesores Diana Marcela Parra y Andres Gonzales quienes siempre estuvieron dispuestos a guiarnos, aconsejarnos y aportar críticas constructivas los cuales fueron necesarios para realizar este trabajo además de ofrecernos las herramientas necesarias para lograrlo de la mejor manera.

ÍNDICE

Índice de figuras.....	8
Índice de tablas	8
Resumen	9
Introducción.....	10
1. Antecedentes	11
2. Marco referencial	15
2.1. <i>Blastocystis</i>	15
2.1.1. Taxonomía	15
2.1.2 Morfología	17
2.1.2.1. Forma vacuolar	18
2.1.2.2. Forma granular	18
2.1.2.3. Forma ameboide	19
2.1.2.4. Forma quística	19
2.1.2.5. Formas multivacuolar y avacuolar	19
2.1.3. Ciclo de vida	20
2.1.4. Epidemiología	22
2.1.5. Signos y síntomas.....	24
2.1.6. Patogenia	25
2.1.6.1. Inducción de secreción de mucinas neutras por las células de Goblet	25
2.1.6.2. Secreción de proteasas dependientes de cisteína	26
2.1.6.3. Aumento de la permeabilidad intestinal	26
2.1.6.4. Activación de mecanismos de hipersensibilidad tipo I	26
2.1.6.5. Respuesta inmune del hospedero	27
2.1.7. Factores de riesgo	27
2.1.8. Diagnóstico	28
2.1.8.1. Examen directo	28
2.1.8.2. Técnica de concentración por Formol-Acetato de Etilo (FEA)	28
2.1.8.3. Métodos basados en Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	29
2.1.9. Relación entre <i>Blastocystis</i> y microbiota intestinal	29
2.2. <i>Entamoeba histolytica</i>	30
2.2.1. Taxonomía	30
2.2.2. Morfología	32
2.2.2.1. Estructura trofozoito	32
2.2.2.2. Estructura quiste	32
2.2.3. Ciclo de vida	34
2.2.4. Epidemiología	35
2.2.5. Signos y síntomas	38
2.2.6. Patogenia	39
2.2.7. Factores de riesgo	40
2.2.8. Diagnóstico	41
2.2.8.1. Microscopia	41
2.2.8.2. Métodos Bioquímicos	42
2.2.8.2.1. Cultivo e isoenzimas	42
2.2.8.2.2. Detección de anticuerpos	42
2.2.8.2.3. Prueba de inmunoensayo enzimático	43

2.2.8.3. Pruebas diagnósticas basadas en biología molecular	44
2.2.9. Relación entre <i>E. histolytica</i> y la microbiota intestinal	44
2.3. <i>Giardia duodenalis</i>	45
2.3.1. Taxonomía.....	47
2.3.2. Morfología	50
2.3.2.1. Estructura del trofozoito	50
2.3.2.2. Estructura del quiste	51
2.3.3. Ciclo de vida.....	53
2.3.4. Epidemiología	55
2.3.5. Signos y síntomas.....	55
2.3.6. Patogenia.....	58
2.3.7. Factores de riesgo	68
2.3.8. Diagnóstico	59
2.3.8.1. Microscopía	59
2.3.8.2. Métodos de examen directo.....	60
2.3.8.3. Métodos de cultivo.....	60
2.3.8.4. Pruebas de inmunodiagnóstico.....	61
2.3.8.5. Métodos moleculares	62
2.3.9. Relación entre <i>G. duodenalis</i> y la microbiota intestinal	62
3. Pregunta problema y Objetivos	64
3.1 Pregunta problema.....	64
3.2 Objetivo general.....	64
3.3 Objetivo específico.....	64
4. Diseño metodológico	64
4.1. Universo, población, muestra	64
4.1.1. Usuarios Directos	64
4.1.2. Usuarios Indirectos	65
4.2. Técnicas y procedimientos	65
5. Resultados.....	65
5.1 Generalidades y caracterización de los artículos seleccionados.....	65
5.2 Principales hallazgos sobre la microbiota intestinal en los estudios analizados.....	66
5.2.1 <i>Blastocystis</i>	67
5.2.2 <i>E. histolytica</i>	68
5.2.3 <i>G. duodenalis</i>	69
6. Discusiones	70
7. Conclusiones	73
8. Limitaciones	75
9. Referencias bibliográficas.....	75
10. Anexos	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. **a.** Forma vacuolar de *Blastocystis* **b.** Forma granular *Blastocystis* **c.** Forma ameboide de *Blastocystis* **d.** Forma quística de *Blastocystis* **e.** Forma multivacuolar de *Blastocystis*

Figura 2. Diagrama ciclo de vida *Blastocystis*

Figura 3. Distribución de los subtipos de *Blastocystis* en los diferentes países donde se han tipificado las muestras

Figura 4. Árbol Filogenético: Relación filogenética entre especies del género *Entamoeba* mediante análisis de la secuencia del ARNr 16s, según Stensvold *et al*

Figura 5. **a.** Estructura trofozoito *E. histolytica* **b.**Estructura quiste *E. histolytica*

Figura 6. Diagrama ciclo de vida *E. histolytica*

Figura 7. Distribución global de *E. histolytica*

Figura 8. **a.** trofozoito de *G. duodenalis*(24) **b.** Quiste de *G. duodenalis*

Figura 9. Ciclo de enquistamiento del trofozoito de *G. duodenalis*

Figura 10. Diagrama ciclo de vida *G. duodenalis*

Figura 11. Diagrama de flujo PRISMA en donde se observa la selección de artículos para revisión.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. ST de *Blastocystis* en animales

Tabla 2. Especies de *Giardia* relacionadas con el hospedero



RESUMEN

La microbiota intestinal está conformada por bacterias, protozoos, virus, hongos y arqueas, desempeña un rol fundamental en la salud humana. En un individuo sano prevalecen cuatro filos Firmicutes, Bacteroides, Proteobacteria y Actinobacteria. Sin embargo, esta comunidad puede verse afectada por diferentes factores como la presencia de parásitos protozoarios generando un desbalance con un impacto significativo.

Con el fin de identificar cuáles son las alteraciones de la microbiota intestinal en presencia de protozoarios reportadas en la literatura, se planteó una búsqueda sistemática en las bases de datos Google Académico y Pubmed, seleccionando artículos entre 2017 y 2023 y escritos en los idiomas inglés y español. En los resultados obtenidos se obtuvieron un total de 37 artículos en donde se resalta la literatura asociada particularmente a *G. duodenalis*, *E. histolytica*, y *Blastocystis*.

En los artículos revisados se destaca que la microbiota intestinal puede tener una afectación positiva, negativa o no mostrar alteración al momento de relacionarse con dichos parásitos. En el caso de *Blastocystis*, se observa una relación inversamente proporcional con la disminución de los géneros Bacteroides, *Streptococcus* y *Lactobacillus*, mientras que se evidencia un aumento en el género *Faecalibacterium*. Por otra parte, *E. histolytica* puede provocar una disbiosis en la microbiota generando un proceso sintomático en el humano. Finalmente, en la infección por *G. duodenalis* se evidencia una disminución en la diversidad de la microbiota, aunque se presenta un aumento en géneros como *Prevotella*, *Bifidobacterium* y *Escherichia coli*.

El estudio de la microbiota intestinal resulta crucial para el entendimiento de la patobiología de las enfermedades gastrointestinales asociadas a la presencia de parásitos protozoarios patógenos.

Palabras clave: Microbiota intestinal, Disbiosis, Protozario, Interacciones Microbiota-Huésped.

INTRODUCCIÓN

En el intestino humano se encuentra una comunidad microbiana muy variada, conformada por bacterias en su gran mayoría, pero también incluye hongos, virus, arqueas y protozoos (2), cuyo papel aún no está claro, aunque en los últimos años se han comenzado a realizar investigaciones para encontrar su función en el ecosistema intestinal (3,53).

Esta microbiota puede ser afectada por diferentes patologías o microorganismos como los parásitos intestinales, que se encuentra entre las infecciones más comunes que afectan a los humanos y contribuyen a la morbilidad y mortalidad en el mundo (4,58), causadas por una gran variedad de especies de helmintos y protozoos, de los cuales se resaltan *G. duodenalis* que puede llegar a impactar a más de 250 millones de personas a nivel mundial (3), *E. histolytica* que genera 50 millones de casos (1) y *Blastocystis* que reporta entre 10 y 20 millones de casos en todo el mundo (3).

La investigación sobre el impacto de protozoarios en la microbiota intestinal humana es fundamental para avanzar en el entendimiento de la relación entre estos microorganismos y la salud humana. La microbiota intestinal cumple funciones clave en el metabolismo, la inmunidad y la protección contra patógenos, y su equilibrio es esencial para el bienestar del organismo. Protozoarios como *G. duodenalis*, *E. histolytica* y *Blastocystis* son parásitos que pueden alterar esta comunidad microbiana, desencadenando efectos que van desde

interacciones leves hasta disbiosis grave. El presente trabajo evaluó el impacto ocasionado por la presencia de estos parásitos en la microbiota humana, el estudio se realizó a través de una revisión sistemática generada a través de la metodología prisma, por medio de la cual se identificó el comportamiento del microbioma en presencia de dichos patógenos.

La relevancia del presente trabajo reside en que, aunque los efectos específicos de los protozoarios sobre la microbiota han sido poco explorados es necesario identificar las alteraciones de la microbiota intestinal en el humano cuando existe la presencia de estos microorganismos para así poder comprender los cambios que pueden tener implicaciones significativas para el tratamiento de enfermedades intestinales, son estas razones las que condujeron al desarrollo de esta revisión de la literatura.

1. ANTECEDENTES

Even y colaboradores en 2021 mencionan que existen evidencias crecientes que sugieren que los protozoos intestinales no patógenos pueden influir en la microbiota bacteriana del intestino indicando que *Blastocystis* y *E. histolytica* están asociados con modificaciones en la diversidad y composición del microbioma intestinal. Sin embargo, ningún estudio ha explorado el impacto de su co-colonización. Por lo cual Even investigó el efecto de la colonización generada por *Blastocystis* y *E. histolytica* en la microbiota intestinal en una población con alta prevalencia de estos protozoos (1).

Petri et en 2021 confirmó que *Blastocystis* tiene un impacto significativo en la composición y variedad del microbioma en poblaciones con bajo nivel de industrialización. La colonización por este microorganismo se correlaciona con una mayor diversidad microbiota, independientemente del índice de diversidad alfa obtenido, lo cual coincide con estudios previos (1), en donde no encontraron cambios significativos en los índices de Shannon y Gini-Simpson. Además, la composición de la microbiota intestinal varía según el hospedero que se

colonice o no por *Blastocystis*, sin importar el índice de diversidad beta encontrado. Aunque el estudio de Petri y colaboradores no estaba diseñado para evaluar diferencias en la composición del microbioma según los subtipos (ST) de *Blastocystis*, se ha demostrado por primera vez que la diversidad microbiana es mayor en sujetos colonizados por múltiples ST de *Blastocystis* que en aquellos con un solo ST. Este hallazgo sugiere que la mayor uniformidad bacteriana observada en individuos con múltiples ST de *Blastocystis* podría requerir mayor investigación, considerando cohortes más grandes (4).

En cuanto a la composición específica, se observó un enriquecimiento significativo de ciertos taxones bacterianos en individuos positivos para *Blastocystis*, destacando una mayor abundancia relativa de *Ruminococcaceae*, como en estudios anteriores, este hallazgo se alinea con la observación de que la colonización por *Blastocystis* es menos prevalente en individuos con un enterotipo dominado por *Bacteroides* en comparación con aquellos con mayor presencia de *Ruminococcus* o *Prevotella* (4).

Adicionalmente, en el estudio de Dubik en 2022 y colaboradores se detectó una mayor abundancia relativa de *Clostridiales* en individuos positivos para *Blastocystis*, en concordancia con estudios realizados en Francia (6) y en países menos industrializados. La consistencia de estos resultados sugiere que muchos de los taxones bacterianos enriquecidos en individuos colonizados por *Blastocystis* incluyen bacterias productoras de butirato, importantes para la salud intestinal. No se encontraron signos de disbiosis en individuos positivos para *Blastocystis*, como una proliferación de *Proteobacteria* (6).

Por tanto, la colonización por *Blastocystis* parece no ser perjudicial para la microbiota intestinal humana, e incluso podría ser beneficiosa. Esta idea está respaldada en el estudio de Mejia en 2020 por la falta de síntomas asociados con la colonización por *Blastocystis*, su relación con una mayor abundancia de bacterias potencialmente beneficiosas y una mayor diversidad

microbiana, además de la ausencia de inflamación intestinal. En consecuencia, la exclusión de donantes fecales positivos para *Blastocystis* en trasplantes de microbiota fecal (FMT) ha sido cuestionada (7) ya que no se observaron síntomas gastrointestinales ni efectos adversos en receptores de FMT provenientes de donantes con *Blastocystis* (7).

Por otro lado, León y colaboradores en 2020 afirman que *E. histolytica* parece tener un efecto menos pronunciado en la microbiota bacteriana intestinal. Aunque se observó un aumento en la riqueza de especies en individuos positivos para *E. histolytica*, no se logró evidenciar diferencias significativas en la estimación de uniformidad. Estos hallazgos sugieren que *E. histolytica* interactúa con la microbiota intestinal de una manera distinta a *Blastocystis*, introduciendo cambios a una escala más fina y afectando principalmente a bacterias raras (2).

Además, Chacón y colaboradores postularon en 2017 que las diferencias entre la composición y diversidad del microbioma bacteriano inducida por estos dos protozoos podrían reflejar interacciones diferenciadas entre las bacterias y los protozoos en el intestino. Aunque es necesario investigar más para identificar y cuantificar las bacterias ingeridas por *Blastocystis* o *E. histolytica*, este estudio subraya la necesidad de explorar las interacciones directas entre estos protozoos y las bacterias intestinales mediante modelos experimentales más avanzados (9).

Fekete y colaboradores mencionan en 2020 que la disrupción del microbioma intestinal del hospedero ha sido ampliamente documentada en diversas infecciones enteropatógenas y estudios recientes han identificado roles cruciales del microbioma en la modulación del desenlace de estas enfermedades. Durante las infecciones por *G. duodenalis*, se han observado alteraciones significativas en las funciones y la composición de la microbiota comensal del hospedero. Estas incluyen cambios en la composición y diversidad de especies bacterianas, así

como, una alteración directa en la composición de la biopelícula bacteriana intestinal, lo que podría estar relacionado con la liberación de probiontes (8).

También en su investigación sobre *G. duodenalis* se han utilizado modelos animales libres de gérmenes y tratados con antibióticos. Además, se ha demostrado que el microbioma, al modular la inmunidad del hospedero, la función de las células mucosas y el microambiente intestinal, son factores determinantes en la resistencia o facilidad de generar una infección por *G. duodenalis*, así como en la severidad y duración de la enfermedad. El desarrollo de modelos en animales busca identificar los roles específicos de especies comensales individuales en la giardiasis, lo que podría representar futuros objetivos terapéuticos. Además, la disrupción del microbioma podría contribuir al desarrollo de complicaciones post infecciosas, incluyendo el síndrome del intestino irritable. Es necesaria más investigación para entender cómo la alteración de las interacciones homeostáticas entre los microbios y las células del hospedero podría contribuir a complicaciones intestinales y extraintestinales crónicas durante la giardiasis (8).

Por último, las intervenciones dietéticas y el uso de probióticos están emergiendo como posibles opciones terapéuticas para la giardiasis y otras enfermedades gastrointestinales en las que la microbiota intestinal juega un papel activo. Los probióticos podrían ejercer efectos antiparasitarios directos o indirectos en el intestino y se ha demostrado que reducen la infección por *G. duodenalis*. Otro factor que se ha considerado como riesgo para el desarrollo giardiasis grave es la dieta y complicaciones post infecciosas, especialmente en niños desnutridos. Se evidencio que la variabilidad de síntomas puede ser específico para cada población dependiendo de qué dieta están manejando de acuerdo con su entorno o costumbres. Futuros estudios clínicos serán necesarios para determinar la eficacia de las intervenciones dietéticas y probióticas y para identificar las poblaciones en las que estas intervenciones serán más efectivas. Debido a que se ha observado que *G. duodenalis* puede tener tanto efectos protectores

como perjudiciales sobre la salud general en humanos y en modelos animales, es esencial profundizar en nuestra comprensión, cómo el microbioma contribuye a la variabilidad en las manifestaciones clínicas (8).

2 . MARCO REFERENCIAL

2.1 *Blastocystis*.

Es un parásito unicelular anaerobio perteneciente al reino Chromista que posee un potencial patógeno incierto que infecta a humanos u otros animales específicamente en su intestino. En el caso de que el protozoo colonice al humano se denomina *Blastocystis hominis*, pero debido a su amplia diversidad genética se conoce mejor como *Blastocystis* (9).

2.1.1 Taxonomía

Actualmente la clasificación a nivel taxonómico de *Blastocystis* se encuentra en revisión, la primera descripción fue realizada por Alexeieff junto con Brumpt en 1912 (9). Antiguamente se consideraba este parásito como una levadura, un hongo imperfecto, y un protista unicelular. Basándose en estudios filogenéticos moleculares específicamente del gen de la subunidad pequeña del (SSU-rRNA) conocido comúnmente como ARN ribosomal, donde *Blastocystis* se ha sido clasificado dentro del grupo Stramenopiles, el cual evolutivamente es heterogéneo, sin categoría taxonómica formal, que incluye protistas unicelulares y pluricelulares (10).

Se ha observado que *Blastocystis* posee una considerable diversidad genética, presentando una gran cantidad de subtipos a nivel molecular distintos con características a nivel morfológico similares. De acuerdo con el consenso taxonómico, todas las especies de *Blastocystis*, sin importar su hospedero, se denominan de la misma manera, por lo que la especie previamente conocida como *Blastocystis hominis*, específica del ser humano, ahora se conoce como *Blastocystis*. A este parásito se le conocen hasta el momento 17 subtipos nombrados como ST1

a ST17, donde (ST1 a ST9) son responsables de colonizar humanos, aves y otros mamíferos, mientras que los 8 subtipos restantes, es decir ST10 a ST17) se han encontrado solo en hospedadores no humanos (5,10).

Se ha identificado una significativa variación genética entre múltiples aislamientos de *Blastocystis* obtenidos de humanos y animales, principalmente a través del análisis de polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción que se lograron obtener por PCR con cebadores específicos marcados y secuenciados. Esta considerable diversidad genética entre los aislados fue posteriormente confirmada mediante análisis filogenéticos moleculares, basados en secuencias de SSU-RADN. Posteriormente, se identificó un nuevo subtipo (ST10) en primates y artiodáctilos y más recientemente, siete subtipos adicionales (ST 11-17) fueron descubiertos en animales de zoológico (13).

La mayoría de las muestras analizadas en estudios epidemiológicos correspondían a infecciones simples, mientras que las infecciones mixtas es decir infecciones por al menos dos ST diferentes probablemente derivan de múltiples fuentes de infección (Tabla 1). La prevalencia de estas infecciones mixtas, que varía entre el 2,6% y el 14,3%, es similar en diferentes países. Sin embargo, la verdadera prevalencia de las infecciones mixtas es difícil de determinar y puede estar subestimada, dado que depende del método de subtipificación empleado. En diferentes estudios reportados (9), incluidos los de Europa, África, Oceanía, Asia y Oriente Medio, la gran mayoría de infecciones humanas con *Blastocystis* fueron atribuibles al ST3. Algunas excepciones incluyen una mayor prevalencia de ST4 en España, Dinamarca y una región de Francia y de ST1 en Tailandia. En conjunto, estos estudios sugieren que el ST3 es el subtipo dominante de origen humano, como se propuso inicialmente, aunque también se puede encontrar en algunos animales. El predominio del ST3 podría explicarse principalmente por la transmisión a gran escala de humano a humano. Las proporciones de ST1 a ST4 varían

entre regiones, siendo ST6 y ST7 comunes en Asia, pero raramente observados en Europa. ST5, ST8 y ST9 se encuentran esporádicamente en humanos (5,13).

La comparación de secuencias del gen SSU-RADN, los experimentos de transmisión cruzada y la prevalencia de diferentes ST en poblaciones humanas sugieren que casi todos los ST de origen presuntamente animal son probablemente zoonóticos y capaces de infectar a humanos. De hecho, se ha identificado que el riesgo aumenta para obtener una infección por *Blastocystis* en humanos que tienen contacto con otras especies como los cuidadores de zoológicos y trabajadores de mataderos, lo que indica que los animales podrían ser una fuente zoonótica significativa de este parásito para los humanos (10).

Tabla 1. ST de *Blastocystis* en animales

Animal	Subtipos detectados
Vaca	ST1, ST3, ST5, ST10, ST14
Cabra	ST3, ST7, ST10
Oveja	ST10, ST15
Cerdo	ST2, ST5, ST14
Gallina	ST7
Roedor	ST2, ST3, ST4
Chinchilla	ST3
Topo	ST5
Jirafa	ST3
Ciervo	ST5, ST10, ST13
Camello	ST1, ST3, ST5, ST10, ST14, ST15
Rinoceronte	ST5
Ave	ST5
Marsupial	ST8
Perro	ST2
Primate	ST4

2.1.2 Morfología

La estructura morfológica de *Blastocystis* es característica de un microorganismo eucariota, en el cual se observa un citoplasma con organelos típicos como lo es el ribosomas, aparato de

Golgi, retículo endoplásmico rugoso, microtúbulos y vacuolas. Además de esto tiene una estructura de doble membrana intracelular también conocida como organelos tipo mitocondrial. En cuanto a su genoma tiene una molécula de ADN circular, que se conserva entre los diferentes ST de *Blastocystis*, la cual codifica diferentes proteínas mitocondriales, pero no tiene los genes para la enzima citocromo-oxidasa y para el ATP sintasa (11).

Está envuelto por una cápsula de un espesor que puede variar y tiene funciones de nutrición y adherencia celular, también varía su número de núcleos, las formas parasitarias pequeñas suelen tener de uno a dos núcleos ubicados a los extremos de la célula, a diferencia de las células más grandes en las que se pueden presentar hasta cuatro núcleos. Posee pleomorfismo teniendo así, seis formas parasitarias que pueden variar en características como estructura, tamaño, y lugar de concurrencia. Presenta cuatro formas principales las cuales son vacuolar, granular, ameboide y quística, por otro lado, las formas menos comunes son la multivacuolar y avacuolar (Fig 1) (9).

2.1.2.1. Forma vacuolar: Se caracteriza por ser la más vista en hospederos. En su periferia se pueden encontrar los núcleos, vacuolas endosomales y mitocondrias y en el centro se encuentra una gran vacuola la cual abarca hidratos de carbono o lípidos con el fin de cumplir como reserva o para multiplicación celular. Esta forma posee de 1 a 4 núcleos y mide de 5 a 15 μm e incluso pueden llegar a alcanzar hasta 200 μm de diametro, tambien tiene una cubierta fibrilar de un espesor variado que contiene glucosa, manosa, fucosa, N-acetilglucosamina, ácido salicílico y quitina (5,10).

2.1.2.2. Forma granular: Mide de 6 a 8 μm , se pueden observar de 1 a 4 núcleos y tiene una gran cantidad de gránulos tanto en el citoplasma como dentro de la vacuola, la clasificación de estos gránulos se divide en tres grupos: lipídicos, reproductivos y metabólicos, este parásito

puede llegar a evidenciarse en su forma vacuolar con ciertos estímulos en cultivos *in vitro* como podrían ser la adición de cortos antibióticos o la concentración de suero fetal (13).

2.1.2.3. Forma ameboide: Se caracteriza por tener uno o dos pseudópodos demostrando así una morfología irregular, en su interior se puede observar una o varias vacuolas y uno o dos núcleos que miden de 3 a 8 μm . Este parásito también puede contener en su interior bacterias o detritos consumidos a raíz de su nutrición. (11).

2.1.2.4. Forma quística: Tiene una forma ovoide o esférica midiendo entre 3 y 10 μm , el cual está rodeado por una pared multilaminar. En su interior presenta múltiples vacuolas además de depósitos de lípidos y glucógeno. Respecto a sus núcleos se observa entre uno y cuatro, pero si el quiste es aislado frecuentemente presenta dos núcleos (11).

2.1.2.5. Formas multivacuolar y avacuolar: Su morfología o tamaño puede variar dependiendo a la cepa o a las condiciones en las que se encuentra el parásito midiendo más o menos 8 μm y teniendo uno o dos núcleos en su interior. Estas fases morfológicas se observan en su mayoría en heces frescas y en estudios donde se analiza el parásito *in vivo* (11).



Figura 1. a. Forma vacuolar de *Blastocystis* b. Forma granular *Blastocystis* c. Forma ameboide de *Blastocystis* d. Forma quística de *Blastocystis* e. Forma multivacuolar de *Blastocystis* (12)

2.1.3 Ciclo de vida

El protozoo *Blastocystis* cuenta con una estructura de supervivencia conocida como quiste, el cual puede infectar tanto a seres humanos como a animales. Una vez ingeridos, estos quistes se transforman en formas vacuolares al alcanzar el intestino grueso. La transmisión ocurre

principalmente a través de la ruta fecal-oral (Fig 2) , por lo general mediante el consumo de alimentos o agua que cuenten con la presencia de quistes del parásito (10,11,13).

En el tracto digestivo del hospedero, los quistes se liberan de su cubierta por la acción enzimática y de ácidos que tiene el estómago, convirtiéndose en formas avacuolares sin cubierta celular. Posteriormente, estas formas avacuolares se desarrollan en formas multivacuolares al alojarse en las células epiteliales del intestino. De esta forma multivacuolar nace la pared quística que se da por la gruesa capa celular (11,13).

Se cree que esta capa eventualmente se desintegra, permitiendo que el parásito adquiera su forma quística, resistente y considerada la forma infectante para los humanos. Esta forma es la más común encontrada en las heces, lo que la hace útil para poder diagnosticar la infección por *Blastocystis* (13).

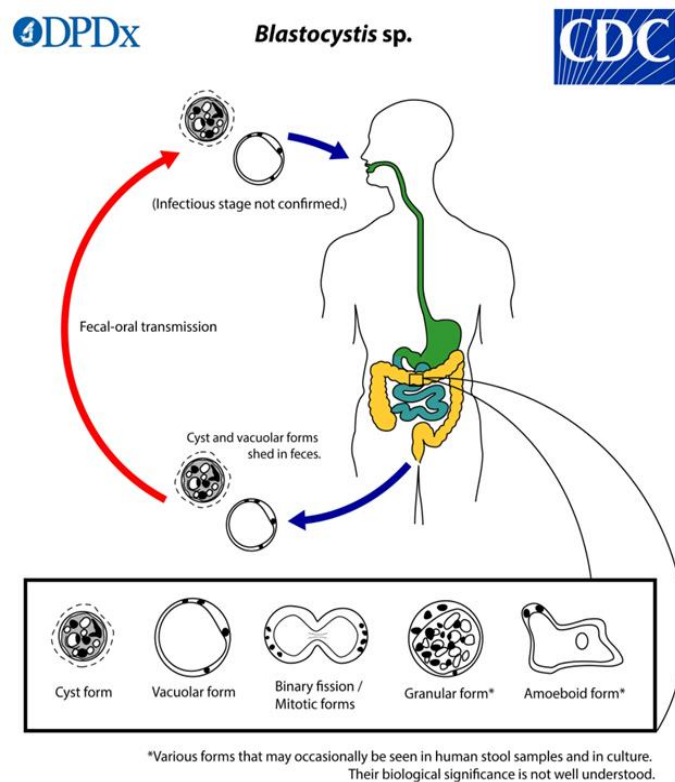


Figura 2. Diagrama ciclo de vida *Blastocystis* (13)

2.1.4 Epidemiología

Blastocystis es uno de los parásitos más frecuentemente encontrados en el intestino humano. Este parásito se puede transmitir entrando en contacto con animales u otros humanos previamente infectados, también por contaminación indirecta a través del consumo de alimentos y/o agua contaminados. La infección se puede transmitir de manera fecal-oral y como reservorios de la infección suelen estar los humanos junto con diversas especies animales como, ganado, aves de corral, perros, roedores, cerdos, primates, y otros animales domésticos y silvestres cuyas heces pueden llegar a contener el quiste (14).

La distribución al igual que la frecuencia de eliminación de quistes de *Blastocystis* por medio de heces no están bien documentadas. Un estudio transversal encontró que solo el 21% de las personas infectadas eliminan quistes en sus heces (14).

En los últimos años se han registrado aproximadamente 1.000 millones de casos de personas colonizadas por *Blastocystis*. Esta infección tiene una distribución global, la cual tiene una alta prevalencia en países tropicales y subtropicales que están en desarrollo. En países como Japón y Singapur se reporta una tasa de contagio menor al 5%, en Estados Unidos del 10% mientras que en Cuba, Brasil, Argentina, Egipto, Indonesia, Emiratos Árabes, Malasia, Líbano, Irak, México, Venezuela, Tailandia y Malasia una tasa superior al 20% y la frecuencia más alta es en la población infantil en Senegal acercándose al 100% (14, 45).

Los seres humanos pueden ser hospederos de diversas cepas de *Blastocystis*, las cuales también se encuentran en diferentes mamíferos. El ST1 está presente en varios mamíferos, el subtipo 2 en primates y cerdos, el ST 4 en roedores, el ST 5 en ganado vacuno y cerdos, y los ST 6 y ST7 en aves. El ST 3 es el genotipo más frecuentemente aislado en estudios epidemiológicos y probablemente es el único genotipo originado en humanos. Los análisis filogenéticos muestran que los ST8 y ST9 están más estrechamente relacionados con los ST4 y ST6, respectivamente.

Sin embargo, existe poca información sobre estos subtipos; el ST8 ha sido identificado en monos, faisanes y humanos en tres estudios, mientras que el ST9 se ha observado en aislamientos humanos. Las distribuciones de genotipos entre diferentes hospederos animales son preliminares y podrían volverse más precisas a medida que se realicen más estudios. Por ejemplo, aunque el subtipo 5 se considera el principal genotipo de *Blastocystis* en cerdos debido a su alta prevalencia, otros estudios sugieren que el subtipo 1 también puede predominar en esta especie. Recientemente, se ha descubierto que los cerdos también pueden albergar el subtipo 2, anteriormente asociado sólo con humanos y primates (14,15).

En América del Norte y del Sur, los subtipos de *Blastocystis* identificados y con mayor predominio fueron ST1 y ST2, los cuales se detectaron en muestras provenientes de ocho de los nueve países evaluados. El subtipo ST3 también fue común, encontrándose en siete de los nueve países. En menor frecuencia, se identificó un subtipo nuevo en cinco países, mientras que los subtipos ST4 y ST8 se encontraron en cuatro países. Los subtipos ST6 y ST7 se detectaron en tres países, ST5 en dos países, y los subtipos ST 9, ST 10, ST 12 y ST17 se observaron en un solo país de los nueve estudiados (Fig 3) (15).

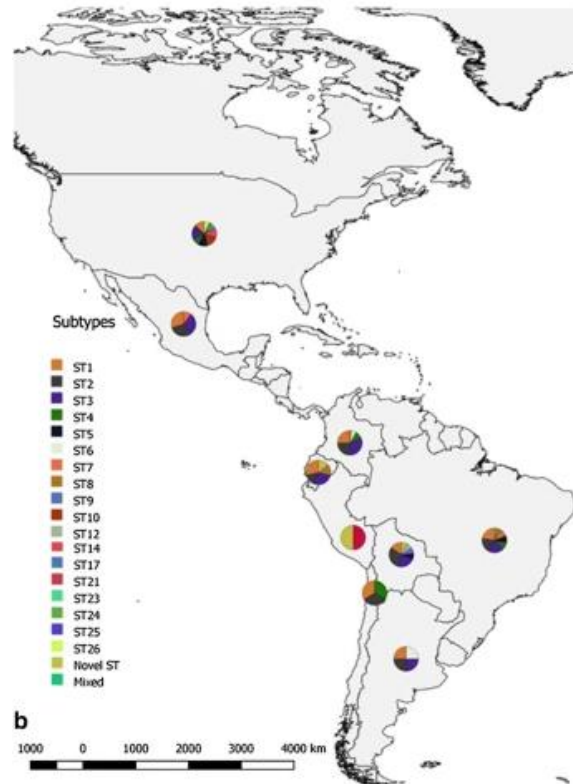


Figura 3. Distribución de los subtipos de *Blastocystis* en los diferentes países donde se han tipificado las muestras.

2.1.5 Signos y síntomas

La relación entre *Blastocystis* y enfermedades gastrointestinales es objeto de estudio. La infección puede ser asintomática o causar dolor abdominal, diarrea, náuseas y pérdida del apetito. La sintomatología no está relacionada con la carga parasitaria. La blastocistosis puede manifestarse de manera aguda o crónica, con síntomas que pueden empeorar con el tiempo. Además de los síntomas gastrointestinales, la infección puede estar asociada con fatiga, erupciones cutáneas y dolor articular. Dependiendo la carga parasitaria varía la intensidad de los síntomas en el hospedero, además de esto la presencia de *Blastocystis* también puede causar prurito perianal alrededor del ano y otros malestares (16,46,50).

2.1.6. Patogenia

El microbioma intestinal desempeña un papel crucial en varias funciones inmunitarias tanto innatas como adquiridas y del metabolismo. En el caso de *Blastocystis* se ha evidenciado en varios estudios que es común en hospederos con predominio en su microbiota de *Prevotella* y *Ruminococcus*, pero en el caso de pacientes con predominio de Bacteroides no presentan este parásito. Aún no se sabe el significado de esta asociación, pero se sugirió que esta alteración del microbioma en el intestino podría influir en cómo se manifiesta clínicamente la infección parasitaria (17).

Los estudios endoscópicos y las biopsias realizadas en pacientes han demostrado que la mucosa intestinal no es invadida por *Blastocystis*, pero su presencia si genera una inflamación en la pared del intestino, además de cambios de la permeabilidad y pérdida en su función de barrera. Las alteraciones son generadas por diversos mecanismos que aún no son comprendidos completamente, de los cuales varios son no excluyentes, lo cual hace que puedan trabajar en conjunto (17). Entre los propuestos, se encuentran:

2.1.6.1. Inducción de secreción de mucinas neutras por las células de Goblet

El moco intestinal forma una de las barreras más importantes entre las células epiteliales del hospedero y el parásito. Las mucinas son unas glicoproteínas además del mayor componente del moco intestinal, que se producen por las células de Goblet encontradas en el epitelio del intestino. En el caso de *E. histolytica*, este parásito induce la secreción de mucinas neutras y ácidas con una posible composición alterada lo cual disminuye su función de defensa. Por otro lado, *Blastocystis* solo activa la secreción de mucinas neutras generando un desbalance en la carga eléctrica de la superficie epitelial lo que favorece la adhesión del parásito a la superficie intestinal (17).

2.1.6.2. Secreción de proteasas dependientes de cisteína

Blastocystis posee unas proteasas que en su mayoría son cisteín-dependientes, lo cual hace a este parásito sensible a inhibidores como E-64 e iodoacetamida en ensayos con azocaseína. La actividad de esta enzima puede variar dependiendo el subtipo y como fue aislado lo cual se correlaciona con la virulencia del parásito, estas proteasas también contribuyen a la patogenicidad de diversas formas como la inducción de secreción de IL-8 por células epiteliales del intestino, la degradación de IgA secretoria y la inducción de secreción de factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) por células epiteliales intestinales (17).

2.1.6.3. Aumento de la permeabilidad intestinal

Al generarse la infección por *Blastocystis* consecuentemente se produce una disminución en la función de la pared intestinal y una intensificación en la permeabilidad de la mucosa en el colon. Estas alteraciones están relacionadas con diarrea, fenómenos alérgicos, principalmente urticaria, y dolor abdominal característico del síndrome del intestino irritable (SII). Se han descrito tres mecanismos para explicar el aumento de la permeabilidad del intestino gracias a *Blastocystis* los cuales son inducción de apoptosis de células epiteliales, secreción de proteasas dependientes de serina y secreción de hialuronidasa (17).

2.1.6.4. Activación de mecanismos de hipersensibilidad tipo I

La infección por *Blastocystis* ha sido asociada con fenómenos urticarianos, similares a los causados por *G. duodenalis* y otros parásitos intestinales. Cuando se trata la parasitosis se puede llegar a resolver tanto la infección como las lesiones cutáneas. Se sugirió que esta asociación puede estar vinculada a la activación de respuesta Th2, con una alta producción de interleucinas 4,5 y 13 que puede llegar a resultar en una reacción alérgica mediada por IgE. Además, *Blastocystis* podría llegar a activar la vía alternativa del sistema del complemento, generando

moléculas C3a y C5a las cuales actúan mastocitos y basófilos, estimulando de esta forma la liberación de histamina, contribuyendo así a las lesiones cutáneas (17).

2.1.6.5. Respuesta inmune del hospedero

Diversos estudios *in vivo* y en modelos animales han mostrado como *Blastocystis* genera una estimulación en la respuesta proinflamatoria lo cual incrementa la secreción de IL-8, Interferón γ , IL-12 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) por células del hospedero. Normalmente, estas respuestas se regulan por linfocitos intestinales que secretan IL-10. Esto varía en pacientes con SII, donde la producción de IL-10 es menor, lo que resulta en la desregulación de la respuesta que tiene el sistema inmune y el desarrollo de lesiones inflamatorias de la mucosa en el intestino. La respuesta desregularizada del mecanismo defensivo contra *Blastocystis* tiene un papel importante para el desarrollo del SII y debe ser estudiada más a fondo (17).

2.1.7. Factores de riesgo

Los factores que contribuyen a la permanencia de los síntomas incluyen diversas condiciones socioeconómicas y de salud. El ingerir agua que no haya pasado por filtros, sin hervir, proveniente de la tubería, tratada solo con ozono, de botellón o proveniente de manantiales contaminados zoonóticamente con *Blastocystis*, también contribuye significativamente. El contacto íntimo con personas infectadas, la cercanía con mascotas y animales de granja o silvestres, así como un incorrecto aseo de manos, la ingesta de alimentos no lavados o lavados de manera inadecuada y el consumo de alimentos en puestos de la calle son factores adicionales. La falta de higiene en el hogar, la situación económica baja y la falta de acceso cercano a servicios de salud también son determinantes importantes (17).

En algunos pacientes, los síntomas que inician siendo agudos pueden convertirse en crónicos y persistir durante meses o incluso años. En caso de cronicidad, se han podido ver altos niveles

de *Blastocystis*, lo que quiere decir que por campo microscópico se pueden encontrar más de cinco formas, en pacientes con VIH-SIDA que no se han tratado y en aquellos con micosis profundas, como histoplasmosis y paracoccidioidomicosis. Además, *Blastocystis* se multiplica en el intestino de personas con enfermedades inflamatorias en este órgano. Este parásito suele ser más frecuente en enfermedad inflamatoria intestinal y en la colitis ulcerativa, las cargas infecciosas son más altas en la enfermedad de Crohn y en el síndrome de intestino irritable. La presencia de *Blastocystis* en personas con enfermedad celíaca podría relacionarse con bajo peso y atrofia de la vellosidad intestinal. También se ha visto una mayor presencia de *Blastocystis* en las heces de personas con rash cutáneo o urticaria. (17).

2.1.8. Diagnóstico

El examen coproparasitológico seriado debe llevarse a cabo utilizando dos técnicas la de concentración y la directa (9).

2.1.8.1. Examen directo: Se trata en un examen inicial macroscópico donde se analizan las características físicas de las heces seguido por un análisis microscópico que consiste en un examen directo el cual se coloca una gota de Lugol en un extremo de la lámina y otra de solución salina al 0.85% al extremo contrario; cada gota se mezcla con 2,0 mg de la muestra siendo mezclados con un aplicador de madera y luego se cubre con laminillas para observarlas en el microscopio primero con el objetivo 10X seguido del objetivo 40X; esta técnica se utiliza para diagnosticar la presencia de *Blastocystis* en sus diferentes estadios de desarrollo (9,45).

2.1.8.2. Técnica de concentración por Formol-Acetato de Etilo (FEA): Es una técnica de concentración donde se implica la concentración por medio de sedimentación generada en la centrífuga, que se realiza después de una agitación en vortex de la muestra con acetato de etilo y por último se observa el sedimento. En un vaso plástico de 1 onza se agregan 2 gramos de heces y se agregan 10 mL de formalina al 10%. Se unifica la mezcla, y se realiza una filtración

con una gasa mojada transfiriendo a otro vaso. La muestra se coloca en un tubo de ensayo de 10 mL, se añaden 3 mL de acetato de etilo y 0,1 mL de tritón y se centrifuga a 2000 rpm (500 g) durante 10 minutos. Se elimina el sobrenadante para descartar partículas indeseables, dejando medio mililitro, se mezcla el sedimento y se observa al microscopio (9).

2.1.8.3. Métodos basados en Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Los métodos que se basan en PCR, sobre todo aquellos que están diseñados para la detección simultánea de múltiples agentes etiológicos (diagnóstico sindrómico), optimizan los flujos de trabajo, permiten comparar los resultados de diferentes laboratorios y agilizan la acreditación de procedimientos para el diagnóstico (9,46).

2.1.9. Relación entre *Blastocystis* y microbiota intestinal

Se observa una correlación directa entre la presencia o cantidad de *Blastocystis* y una mayor diversidad bacteriana (riqueza del microbioma). Sin embargo, no se observó ninguna asociación con el índice de Simpson, que mide la uniformidad en lugar de la riqueza. *Blastocystis* podría prosperar en comunidades bacterianas ricas o que la propia riqueza crea un ambiente favorable para el protista (18).

Se ha asociado la presencia de *Blastocystis* con la variación en la comunidad bacteriana. Los subtipos principales de *Blastocystis* (ST1, ST2 y ST3) mostraron una asociación similar con el microbioma, sugiriendo que la positividad en sí misma es más importante que el subtipo (18).

La asociación entre *Blastocystis* y la composición bacteriana también ha presentado un decrecimiento en la abundancia de *Bacteroidales*, específicamente *Bacteroides* y *Prevotella*. Existe una asociación inversa entre *Blastocystis* y un enterotipo dominado por *Bacteroides*, además se ha evidenciado que *Bifidobacterium* se asoció inversamente con *Blastocystis* con una abundancia tres veces menor en muestras positivas para *Blastocystis* (18).

2.2. *Entamoeba histolytica*

E. histolytica es una ameba descrita por Schaudinn en 1903 con distribución global que afecta aproximadamente al 10% de la población humana presente en todas partes del mundo, incluyendo las áreas polares. (19) Este parásito es el agente etiológico de la amebiasis, también conocida como disentería amebiana, que afecta a humanos y otros mamíferos, incluidos primates, perros, gatos y cerdos. Investigaciones recientes acerca de la biología y el comportamiento de *E. histolytica* indican la existencia de múltiples cepas de esta especie, las cuales, aunque no se pueden distinguir de manera morfológica, muestran diferencias en términos de patogenicidad (20, 44).

2.2.1. Taxonomía

E. histolytica se clasifica taxonómicamente entre el Phylum Sarcomastigophora el cual comprende a las amebas y a los flagelados (Fig 4). Diversos géneros de amebas, como *Entamoeba*, *Endolimax* e *Iodamoeba*, son parásitos comensales obligados del tracto digestivo humano y se transmiten de un hospedero a otro a través de quistes por la vía fecal-oral. La mayoría de estas amebas carecen de mitocondrias, probablemente debido a las condiciones anaeróbicas del colon. Recientemente se dividió en dos especies morfológicamente idénticas, pero genéticamente diferentes: un microorganismo patógeno que conserva el nombre "*histolytica*" y un comensal conocido como *E. dispar* (21).

El primer borrador del genoma de *E. histolytica* cepa HMI-1, publicado en 2005, mostró una secuencia de 23,752,783 pares de bases y un contenido aproximado de 9,938 genes codificantes para proteínas, lo que representaba el 49% del genoma. Sin embargo, un análisis más detallado a través de estudios genómicos manuales y automatizados realizados en 2010 indicaron que el genoma de *E. histolytica* es menor, con una longitud de 19.2 Mb y 8,201 genes predichos, de los cuales solo el 60% coinciden con la anotación inicial, mientras que el 40% experimentaron

modificaciones estructurales. Estimando que el 25% de los genes en *E. histolytica* contienen intrones; no obstante, el análisis de RNA-Seq realizado por Chung-Chau y colaboradores en 2012 sugirió que fenómenos como el empalme alternativo y la poliadenilación alternativa son infrecuentes, limitados a una pequeña fracción de los genes y por lo tanto contribuyen poco a la diversidad del proteoma de este parásito (21).

Según la base de datos Uniprot (Universal Protein Resource), el proteoma de la cepa *E. histolytica*, HM-1 está compuesto por 7,959 proteínas, de las cuales 24 fueron descritas manualmente utilizando información de literatura y análisis computacionales, mientras que las 7,935 proteínas restantes fueron predichas computacionalmente. Estos datos sugieren que el proteoma de *E. histolytica* es extenso y complejo, en particular, un tercio de las proteínas predichas en *E. histolytica* no tienen homólogos en otras especies. El análisis del genoma también reveló significativos cambios en el metabolismo, incluyendo la disminución de las rutas metabólicas mitocondriales y la utilización de enzimas características del estrés oxidativo. Adicionalmente, se encontró evidencia de transferencia horizontal de genes, con aproximadamente 90 genes bacterianos incorporados al genoma de *E. histolytica*. El genoma también codifica numerosas quinasas receptoras y muestra expansiones en varias familias de genes, incluyendo aquellas asociadas con la virulencia (21).

La tecnología de espectrometría de masas de alto rendimiento es la herramienta más utilizada para perfilar y cuantificar el proteoma, investigar la regulación celular y las modificaciones postraduccionales (como la fosforilación de proteínas y las redes de señalización) en parásitos (21).

Estudios iniciales de proteómica en *E. histolytica* identificaron diversas proteínas implicadas en procesos celulares y establecieron la base experimental para el análisis proteómico en parásitos. Por ejemplo, Leitsch y colaboradores realizaron una investigación preliminar en *E.*

histolytica (cepa virulenta HM-1) utilizando protocolos convencionales de SDS-PAGE bidimensional (2D) y tinción con plata. Se visualizaron más de 1500 manchas de proteínas en geles y varias de ellas se identificaron mediante escisión con tripsina seguida de espectrometría de masas con desorción por ionización láser asistida por matriz (MALDI-TOF) y secuenciación de proteínas (degradación de Edman), las proteínas identificadas estaban involucradas en el metabolismo, como, la piruvato fosfato dikinasa, la fructosa-1,6-bisfosfato aldolasa, la alcohol deshidrogenasa-1 dependiente de NADP y la fosfoglicerato quinasa. También se identificaron chaperonas específicas del retículo endoplásmico, como calreticulina y Grp78. La superóxido dismutasa es la principal enzima desintoxicante en *E. histolytica*, la cual también se encontró en grandes cantidades en los trofozoítos (21).

La lectina inhibible por galactosa (Gal) y N-acetil-D-galactosamina (GalNAc) es un complejo proteico esencial para la muerte y fagocitosis dependiente de contacto de células diana por *E. histolytica* y se considera un factor de virulencia importante. La lectina Gal/GalNAc es una proteína de heterodímero compuesta por una subunidad pesada transmembrana de 170 kDa (Hgl) unida covalentemente a través de enlaces disulfuro a una subunidad ligera de 31/35 kDa (Lgl) anclada a GPI, y una lectina intermedia de unión a galactosa de 150 kDa (Igl) unida de manera no covalente(22.)

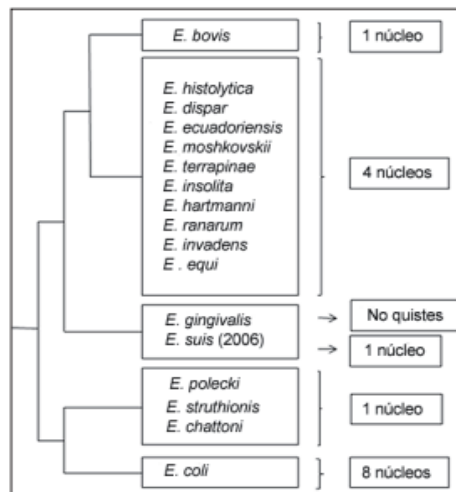


Figura 4. Árbol Filogenético: Relación filogenética entre especies del género *Entamoeba* mediante análisis de la secuencia del ARNr 16s, según Stensvold *et al* (23)

2.2.2. Morfología

2.2.2.1. Estructura trofozoito

Los trofozoítos de *E. histolytica* tienen un diámetro que varía entre 10-60 μm , esto puede variar si el individuo presenta o no síntomas de la infección. Tiene un solo núcleo que mide 4-7 μm de diámetro, ubicado de manera excéntrica, con un cariosoma generalmente centrado y rodeado por gránulos de cromatina. El ectoplasma y el endoplasma se logran diferenciar; debido a que el ectoplasma muestra pseudópodos digitiformes, por otro lado, el endoplasma es granuloso (Fig 5). En muestras de pacientes con disentería, se pueden observar vacuolas con hematíes en su interior (20).

2.2.2.2. Estructura quiste

Los quistes de *E. histolytica* son esféricos con un tamaño 10-20 μm y sus formas maduras contienen hasta 4 núcleos. *E. histolytica* es morfológicamente indistinguible de *E. dispar* debido a que su tamaño es el mismo (Fig 5). Inicialmente se pensó que representaban la forma patógena *E. histolytica* y la forma no patógena (*E. dispar*) del mismo protozoo. Sin embargo, la tipificación con anticuerpos monoclonales, el análisis de isoenzimas, polimorfismo por enzimas de restricción y PCR han confirmado que son dos especies diferentes. En la identificación morfológica, se debe referir a estos organismos como *E. histolytica/dispar* (20).

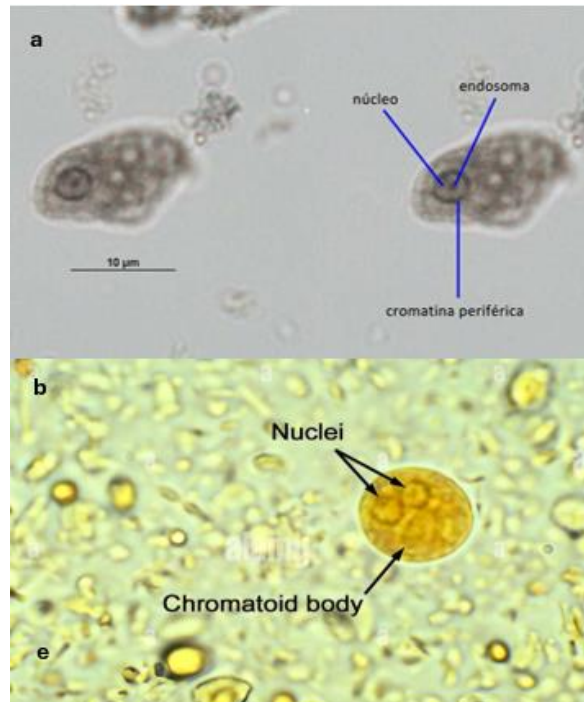


Figura 5. a.Estructura trofozoito *E. histolytica* **b.**Estructura quiste *E. histolytica* (25)

2.2.3. Ciclo de vida

E. histolytica comienza su ciclo de vida cuando el hospedador ingiere los quistes maduros de agua o alimentos contaminados. Los quistes se desenquistan en el intestino delgado, liberando trofozoítos, que luego se multiplican desplazándose al colon. La gran mayoría (90%) de las personas infectadas son portadoras asintomáticas, donde el parásito se asienta en el lumen del colon y elimina quistes a través de las heces para culminar su ciclo de vida (44). En el 10% de los casos infectados, *E. histolytica* atraviesa la mucosa intestinal e invade la lámina propia subyacente, donde interactúa con las células inmunitarias del hospedador, desencadenando una intensa respuesta de citocinas proinflamatorias que provoca daño en los tejidos y la formación de la característica "úlceras en forma de matraz" amebiana. Allí, algunos trofozoítos se transforman en quistes como consecuencia a los diversos cambios ambientales y son

expulsados en las heces. Los quistes que han sido expulsados pueden sobrevivir en el ambiente y ser transmitidos a otros hospedadores, completando así el ciclo de vida (Fig 6) (26).

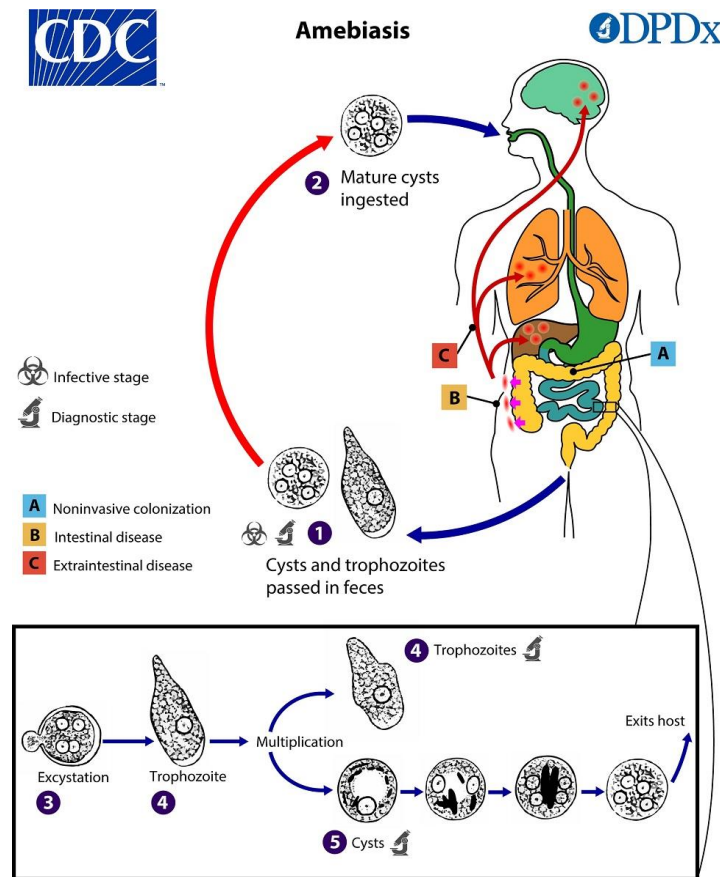


Figura 6. Diagrama ciclo de vida *E. histolytica* (26).

2.2.4. Epidemiología

Actualmente, existen diversas técnicas de diagnóstico molecular para la identificación de la amebiasis intestinal como la PCR en tiempo real, PCR multiplex, PCR anidada y el ensayo de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP). En el caso de la PCR convencional y la PCR anidada, se han utilizado como dianas el gen SSU rDNA, que codifica una proteína de 30 kDa, secuencias de ADN altamente repetitivas, el gen de hemolisina HLY6, cisteína proteinasa, el gen SREHP rico en serina de *E. histolytica* el gen de actina y repeticiones en tándem en el ADN circular extracromosómico para discriminar especies de *Entamoeba*. La PCR en tiempo

real ha sido ampliamente empleada en el diagnóstico de laboratorio de infecciones debido a su capacidad para aumentar la sensibilidad diagnóstica, eliminar la manipulación posterior a la PCR y reducir la posibilidad de contaminación. Además, el desarrollo de la PCR multiplex en tiempo real permite la identificación, genotipado y cuantificación rápida y simultánea de múltiples objetivos de ADN en una única reacción. El ensayo LAMP es también altamente sensible, específico, rápido y simple, lo que lo convierte en una opción viable para el diagnóstico molecular, especialmente en áreas con recursos limitados, aunque la detección molecular es extremadamente sensible y específica, el costo sigue siendo un obstáculo para su implementación como método rutinario en la mayoría de las áreas endémicas (27).

Cui Z y colaboradores revisaron la prevalencia de *E. histolytica* la cual varió globalmente, desde un 1.72% en Oceanía hasta un 21.58% en América del Norte. En Europa, la infección por este parásito se detecta principalmente en viajeros que retornan. Estudios previos sugieren que el riesgo de infección por *E. histolytica* o *E. dispar* es mayor en destinos de África occidental, África oriental y Asia meridional y sudoriental. En algunos países de Asia, África y América del Norte, se ha observado que los niños y los estudiantes escolares presentan un mayor riesgo de contraer amebiasis en comparación con la población general. Por ejemplo, una encuesta transversal realizada en escuelas mostró una alta tasa de infección por *E. histolytica* en escolares (de 7 a 15 años) en Indonesia, con una prevalencia del 52,8%. Además, estudios previos han encontrado que la seropositividad de *E. histolytica* es más común en individuos VIH positivos, particularmente en hombres que tienen sexo con hombres, como lo respaldan los datos moleculares (27).

Las especies de *Entamoeba* que pueden infectar y encontrarse en la luz intestinal de los humanos incluyen *E. histolytica*, *E. dispar*, *E. coli*, *E. moshkovskii*, *E. polecki*, *E. hartmanni* y *E. bangladeshi*. *E. gingivalis* se presenta en la cavidad bucal humana, pero también se ha

detectado en el tracto genitourinario de mujeres que utilizan anticonceptivos intrauterinos en Egipto. *E.nuttalli*, que prevalece en primates, ha sido identificada en un cuidador de zoológico. De las infecciones, *E. histolytica* y *E. dispar* representan el 81,73%; las infecciones restantes son causadas por *E. moshkovskii* (10,22%), *E. coli* (1,98%), *E. hartmanni* (0,96%), *E. polecki* (0,04%), *E. gingivalis* (4,58%) y *E. nuttalli* (0,02%) (Fig 7). Aunque la prevalencia local puede variar significativamente, la infección por *E. dispar* es más común que *E. histolytica* en todo el mundo (27).

E. histolytica continúa representando un desafío significativo para la salud global, siendo la tercera causa principal de muerte por infecciones parasitarias. Aunque aproximadamente el 90% de las infecciones por *E. histolytica* son asintomáticas, un gran número de personas, cerca de 50 millones, desarrollan síntomas, lo que resulta en hasta 100,000 muertes anuales. Las personas infectadas pueden albergar principalmente *E. histolytica* o *E. dispar* (28).

La infección está ampliamente distribuida en todo el mundo, siendo más prevalente en países con bajos niveles socioeconómicos y problemas significativos de salud pública. Países como India, África, México y las regiones de América Central y del Sur presentan tasas elevadas de infección. Por ejemplo, en Bangladesh se reportó que el 2,2% de los casos de disentería en niños en edad preescolar fueron causados por *E. histolytica* durante un estudio de tres años. En áreas rurales de México, la seroprevalencia de *E. histolytica* puede alcanzar hasta el 42% (28).

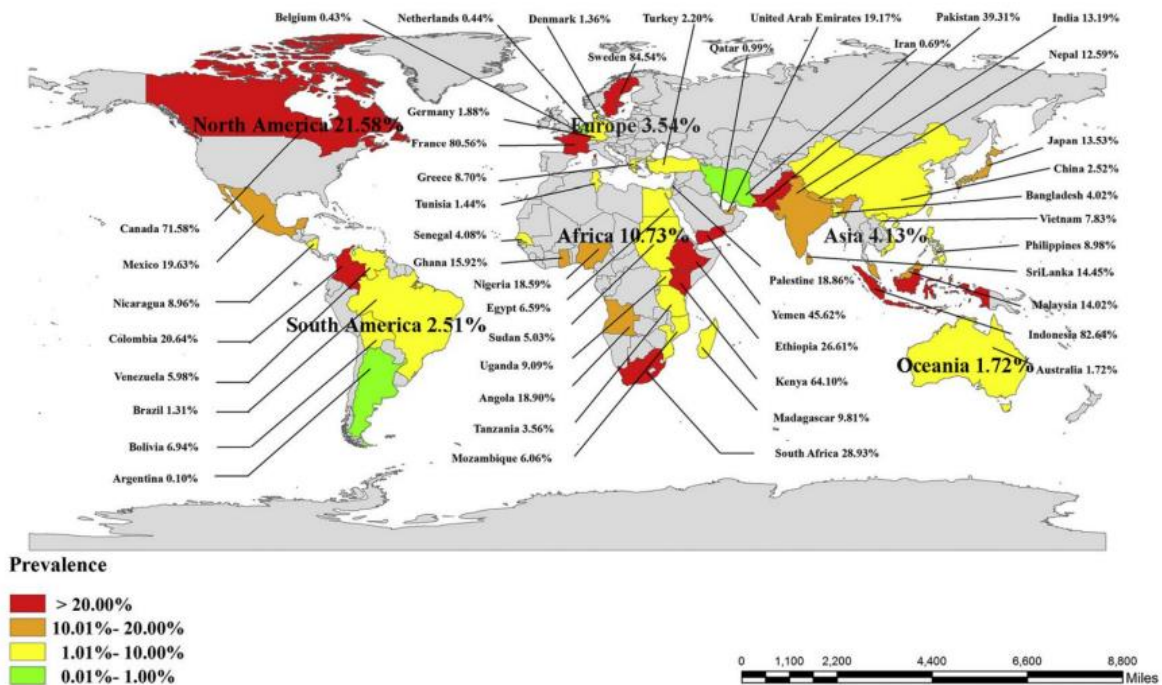


Figura 7. Distribución global de *E. histolytica* (27)

2.2.5. Signos y síntomas

En la mayoría de los casos la amebiasis es luminal, es decir que se encuentra en el intestino y suele ser asintomática. Por otro lado, la amebiasis intestinal invasiva o colitis amebiana se da cuando *E. histolytica* invade la mucosa intestinal. En estos casos, los síntomas pueden incluir complicaciones asociadas y disentería severa. Las infecciones graves y crónicas pueden generar peritonitis, perforaciones intestinales y la formación de granulomas amebianos, que también son conocidos como amebomas (20).

Los abscesos hepáticos amebianos representan manifestaciones extraintestinales de la amebiasis. También se han reportado abscesos pleuropulmonares, abscesos cerebrales y lesiones necróticas en la piel perianal y los genitales (20,50).

2.2.6. Patogenia

Existen numerosos factores de virulencia en *E. histolytica*, incluyendo la cisteína proteasa, la lectina que es inhibida por Gal/GalNac y el amebaporo. *E. histolytica* contiene enzimas proteolíticas como colagenasa, proteasas neutras y cisteína proteasas, que facilitan su invasión tisular. El parásito también produce diversas enzimas en su superficie, como neuraminidasa y β -glucosaminidasa. La virulencia de *E. histolytica* está relacionada con la secreción de gránulos densos en electrones y otros componentes esenciales para su patogénesis incluyen una proteína de unión a Ca^{2+} y calmodulina (29).

La infección ocurre al ingerir quistes tetranucleados de *E. histolytica*. Tras el desenquistamiento, los trofozoítos ocupan el intestino grueso y se unen al epitelio intestinal mediante la interacción de la lectina inhibible por Gal/GalNac con glicoproteínas del hospedero. Esta lectina facilita la adherencia de las células, la resistencia al complemento y la citotoxicidad. Los anticuerpos monoclonales que reconocen la lectina pueden reducir la adherencia y la citotoxicidad en estudios *in vitro* (29).

La lectina Gal/GalNac es un heterodímero de 260 kDa compuesto por subunidades pesadas (170 kDa) y ligeras (31 a 35 kDa) unidas por enlaces disulfuro y asociadas no covalentemente con una subunidad intermedia de 150 kDa. Estas subunidades están codificadas por múltiples familias de genes: la subunidad pesada por cinco genes (hgl1 a hgl5) y la subunidad ligera por seis o siete genes (lgl). Las lectinas Gal/GalNac de *E. dispar* y *E. histolytica* tienen estructuras y funciones distintas; la de *E. dispar* muestra menor adherencia, unión y citotoxicidad. *E. dispar* tiene dos genes de subunidad pesada y cuatro de subunidad ligera (29).

Hay competencia por la unión al receptor c-Met del factor de crecimiento de hepatocitos entre el dominio de reconocimiento de carbohidratos y el propio factor de crecimiento. Esta interacción podría explicar la afinidad de *E. histolytica* por el hígado (29).

E. histolytica mata neutrófilos, macrófagos y eritrocitos por contacto directo. La capa de mucina del colon humano puede impedir la citólisis al neutralizar los epítomos de unión en la lectina (29).

La inflamación provocada por el sistema inmune innato puede ser beneficiosa al proteger al hospedero contra una infección por *E. histolytica*, pero también puede causar daño tisular grave que favorezca la diseminación del parásito. En estudios con xenoinjertos intestinales humanos tratados con oligonucleótidos antisentido contra la subunidad p65 de NF- κ B antes de la exposición a *E. histolytica*, se observó una disminución en la secreción de citocinas proinflamatorias y menos daño tisular en comparación con los xenoinjertos no tratados. Para regular la inflamación excesiva, el proceso de autofagia del hospedero y las proteínas relacionadas con la autofagia juega un papel crucial. La autofagia implica que partes del citoplasma y orgánulos dañados se encierran en una vesícula llamada autofagosoma, que luego se fusiona con un lisosoma para descomponer y reciclar su contenido. La falta de autofagia o la deficiencia de la proteína ATG16L1 en macrófagos aumenta la producción de IL-1 β e IL-18 en respuesta a estímulos como LPS, ATP o cristales de urato monosódico. Dado que la autofagia y sus proteínas asociadas pueden limitar la inflamación, y su interrupción aumenta la producción de citocinas mediada por el inflamasoma NLRP3, se utilizó la interacción entre *E. histolytica* y macrófagos como modelo para estudiar esta relación. Se hipotetizó que el resultado de la infección está determinado por la interacción entre *E. histolytica* y macrófagos, lo que altera los procesos reguladores del hospedero (29).

2.2.7. Factores de riesgo

Se han podido identificar varios factores de riesgo en las naciones desarrolladas. Estos factores incluyen ser inmigrante procedente de países en desarrollo, haber viajado a áreas tropicales donde las enfermedades son endémicas, tener compromisos en el sistema inmunológico debido

a condiciones médicas o tratamientos, residir en instituciones para personas con discapacidades intelectuales, ser hombre y mantener relaciones sexuales con otros hombres (30).

Es crucial destacar que, en la actualidad, existe un debate en torno a la percepción de este último factor como un riesgo significativo. Algunas investigaciones han asociado la actividad sexual entre hombres con un mayor riesgo de ciertas enfermedades infecciosas. Sin embargo, también se ha planteado la preocupación de que esta asociación pueda estar sesgada por prejuicios históricos y culturales, que podrían estigmatizar a ciertos grupos de personas y conducir a un enfoque injusto o discriminatorio para poder prevenir y tratar enfermedades (30).

Es fundamental abordar estos temas con sensibilidad y rigor científico, asegurando que la investigación y las políticas de salud pública reflejen de manera precisa y equitativa los riesgos reales y las necesidades de todas las poblaciones afectadas. Esto implica no solo considerar los factores de riesgo objetivos, sino también examinar críticamente los posibles sesgos y efectos negativos de etiquetar grupos específicos como más propensos a contraer enfermedades, promoviendo así enfoques inclusivos y justos en la salud pública y la atención médica (30, 31).

2.2.8. Diagnóstico

2.2.8.1. Microscopia

El diagnóstico de *E. histolytica* históricamente se ha basado en la microscopía, pero esta no puede diferenciar entre protozoos morfológicamente similares. La sensibilidad y especificidad del examen microscópico en muestras fecales es limitada. La eritrofagocitosis es un criterio diagnóstico para *E. histolytica*. Los trofozoítos son más visibles en heces frescas con moco y sangre, pero la observación requiere habilidad y experiencia. Las muestras deben ser preservadas adecuadamente para un análisis preciso, utilizando fijadores o manteniéndose frescas. La tinción tricrómica de Wheatley y otras tinciones como el yodo de D'Antoni son

recomendadas para la detección. Factores como la entrega tardía de muestras, condiciones de recolección inadecuadas, y la presencia de otras amebas pueden afectar negativamente los resultados de la microscopía (31).

2.2.8.2. Métodos Bioquímicos

2.2.8.2.1. Cultivo e isoenzimas

El cultivo de *E. histolytica* comenzó con el medio de huevo bifásico, pero hoy se utilizan más el medio Robinson y el TYSGM-9 de Diamond para cultivos xénicos, y el TYI-S-33 para cultivos axénicos. Sin embargo, el cultivo y análisis de isoenzimas no son prácticos para el diagnóstico rutinario, ya que son procesos laboriosos y menos sensibles que la microscopía. La identificación de especies a través de cultivos y zimodemas no siempre es fiable en infecciones mixtas. El diagnóstico por biología molecular (PCR) es una herramienta prometedora. *E. dispar*, anteriormente llamada "*E. histolytica* no patógena", también puede ser cultivada, aunque con dificultades. Los cultivos pueden verse contaminados por organismos no deseados como *Blastocystis*. Los patrones de isoenzimas, que han sido usados para diferenciar entre formas patógenas y no patógenas, presentan limitaciones debido a la interferencia de bacterias en cultivos axénicos. No obstante, son útiles para poder distinguir *E. histolytica* de *E. dispar* en áreas endémicas (31).

2.2.8.2.2. Detección de anticuerpos

La detección de anticuerpos contra *E. histolytica* es compleja en áreas endémicas debido a la exposición repetida, lo que dificulta distinguir entre infecciones pasadas y actuales. Las pruebas serológicas son más útiles en países industrializados donde la infección es menos común. La combinación de pruebas serológicas con la detección del parásito (mediante detección de antígeno o PCR) es el mejor enfoque para el diagnóstico. Los anticuerpos séricos

se pueden detectar en el 75-85% de los pacientes con infección sintomática. Los ensayos utilizados incluyen IHA, conrainmunolectroforesis (CIE), prueba de difusión en gel amebiano, fijación del complemento (CF), ensayo de fluorescencia indirecta (IFA), aglutinación de látex y ELISA. Estas pruebas deben ser realizadas por laboratorios con experiencia técnica, junto con cultivo y PCR cuando se sospecha de amebiasis extraintestinal (31).

2.2.8.2.3. Prueba de inmunoensayo enzimático

El método ELISA es ampliamente utilizado en laboratorios de diagnóstico para detectar anticuerpos contra *E. histolytica*. Aunque su sensibilidad es alta, la falta de un "estándar de oro" dificulta la evaluación precisa de su eficacia. Los anticuerpos específicos se detectan en casi el 100% de los pacientes con ALA, y los anticuerpos anti-lectina IgG pueden aparecer a la semana del inicio de los síntomas. Sin embargo, los resultados serológicos pueden ser falsos positivos y deben repetirse si son dudosos (31).

Determinar una infección reciente a menudo se basa en una sola muestra de suero, pero esto no indica cuándo se adquirió la infección. Es esencial mejorar los métodos de diagnóstico para diferenciar infecciones recientes de pasadas. La presencia de anticuerpos IgA está asociada con la protección inmune, pero no necesariamente indica la eficacia protectora (31).

La PCR actual tiene limitaciones debido a los componentes fecales y sustancias inhibidoras. Las pruebas serológicas, como ELISA, son efectivas para diagnosticar ALA e infecciones asintomáticas, pero la detección precisa de infecciones recientes es crucial. La antigenemia de lectina es esencial para detectar anticuerpos anti-lectina (31).

Estudios muestran que las sensibilidades de IgM e IgG anti-lectina aumentan con el tiempo desde el inicio de los síntomas. Es importante no confiar únicamente en pruebas serológicas

debido a su baja especificidad. La reactivación de amebiasis latente puede ocurrir en pacientes con VIH. La ausencia de IgG sérica anti-*E. histolytica* está asociada con la inmunidad innata, y los anticuerpos IgA anti-lectina en heces se relacionan con una menor incidencia de nuevas infecciones (31).

2.2.8.3. Pruebas diagnósticas basadas en biología molecular

La PCR es un método altamente preciso para diagnosticar la amebiasis intestinal, comparable a la detección de antígenos y podría convertirse en el estándar para evaluar otras técnicas de diagnóstico. Es una herramienta poderosa en la investigación genética de *E. histolytica*, aunque es vulnerable a la contaminación cruzada y a falsos negativos debido a inhibidores en las muestras de heces. Muchos estudios han demostrado el éxito de la PCR en el diagnóstico de la amebiasis y en casos de abscesos hepáticos amebianos, especialmente cuando se utiliza pus aspirado. Un diagnóstico exitoso por PCR depende de métodos eficaces de extracción de ADN y cebadores específicos, como los kits comerciales que permiten el uso seguro de muestras de heces fijadas en formalina. La técnica también facilita la detección de *E. histolytica* en pequeñas cantidades de heces. Además, la PCR multiplex ha mostrado ser efectiva para detectar y caracterizar *E. histolytica* y *E. dispar*, con alta sensibilidad y especificidad en estudios. La riboimpresión, que analiza el polimorfismo de sitios de restricción mediante la amplificación y el análisis de fragmentos de ADN, sirve para diferenciar especies de *Entamoeba*, aunque es un proceso complejo y lento (31).

2.2.9. Relación entre *E. histolytica* y la microbiota intestinal

El contacto inicial entre *E. histolytica* y la microbiota residente marca el inicio de la interacción hospedero-parásito, un evento crucial que puede desencadenar la enfermedad. En la capa mucosa externa del colon, *E. histolytica* comparte un nicho con una comunidad diversa de microbiota, interactuando directamente con ellos y aprovechando su presencia. La microbiota

colónica descompone carbohidratos complejos en glicanos, los cuales pueden servir como fuente de nutrientes para *E. histolytica*, mientras que *E. histolytica* también puede alimentarse de la microbiota residente (2).

En estudios con animales libres de gérmenes, la infección por *E. histolytica* no indujo la enfermedad, pero *E. histolytica* pudo restablecerse después de la inoculación con bacterias. De manera similar, en condiciones de laboratorio sin bacterias, la capacidad de *E. histolytica* para restablecerse disminuyó después de la inoculación e incubación con bacterias vivas. Más recientemente, se ha observado que las bacterias de la familia Enterobacteriaceae promueven la virulencia de *E. histolytica*, mejorando su supervivencia al estrés oxidativo, un efecto que no se observa cuando *E. histolytica* se co-cultivan con cepas probióticas (2).

Aunque el mecanismo exacto por el cual la presencia de bacterias entéricas induce la expresión de genes de virulencia en *E. histolytica* sigue siendo poco comprendido, estos hallazgos demuestran la complejidad dinámica de las interacciones entre *E. histolytica* y los organismos comensales. Esto podría potencialmente explicar por qué sólo el 10% de los hospederos de *E. histolytica* desarrollan amebiasis intestinal (2).

2.3. *Giardia duodenalis*

El microorganismo *G. duodenalis* también conocido como *G. lamblia* es un protozoo flagelado que tiene dos núcleos, el cual se desarrolla en ambientes con niveles muy bajos o nulos de oxígeno. *Giardia* tiene seis especies, las cuales se diferencian por sus propiedades morfológicas y la ultraestructura de sus trofozoítos. *G. duodenalis* es responsable de la enfermedad llamada giardiasis y es la única especie del género que parasita a los seres humanos (32,47).

Se han identificado seis especies de *Giardia*, basadas en su morfología y en las especies a las que infectan. La más relevante para humanos y mamíferos es *G. duodenalis*. Otras especies incluyen *G. agilis* en anfibios, *G. ardeae* y *G. psittaci* en aves, *G. muris* en roedores, y *G. microti* en musarañas y topillos. Aunque se ha mencionado *G. varani* en reptiles, su existencia no ha sido confirmada genéticamente (32,49).

Con el avance en la secuenciación del ARN ribosomal y otras técnicas genéticas, se han confirmado diferencias entre estas especies. Además, dentro de *G. duodenalis* se han identificado variaciones en genes específicos, lo que ha permitido su clasificación en diferentes genotipos (o ensamblajes) y sub-genotipos, basados en pequeñas variaciones en las secuencias de los mismos genes. Algunos de estos genotipos son más comunes en humanos, mientras que otros son más específicos de animales, lo que ha llevado a cuestionar el papel zoonótico de *Giardia* (33,49).

Los genotipos A y B afectan a humanos, aunque también pueden infectar a otras especies. Por otro lado, los genotipos de la C a la G se han encontrado en diversos mamíferos. Por ejemplo, los genotipos C y D están relacionados principalmente con perros y cánidos, aunque se han hallado también en gatos. Estos genotipos muestran diferencias suficientes para ser considerados especies distintas. El genotipo E, relacionado con *G. bovis*, se encuentra en artiodáctilos como bovinos y ovinos. El genotipo F, asociado a *G. cati*, se encuentra en gatos, y el genotipo G, correspondiente a *G. simondi*, en roedores. Existen excepciones en la especificidad de estos genotipos, ya que algunos se han encontrado también en humanos, pero se requiere más investigación para confirmar estas divisiones (33).

Además, se ha propuesto un genotipo H para *Giardia* aislada de vertebrados marinos, como focas y gaviotas, y se han encontrado algunos genotipos en peces, aunque no está claro si estos actúan como vectores o tienen un papel más activo en la infección (33).

Dentro de los genotipos A y B, se han identificado sub-genotipos mediante análisis filogenéticos y secuenciación de varios marcadores. Sin embargo, los resultados son aún controvertidos debido a las diferencias que no encajan perfectamente en estas subdivisiones, que también varían según la técnica utilizada. Además, se ha sugerido la posibilidad de recombinación meiótica y reproducción sexual, lo que podría aumentar la variabilidad genética en estos organismos (33).

2.3.1. Taxonomía

En la clasificación de los protozoos, según Levine (1980), el género *Giardia* se encuentra en el Filo Sarcomastigophora, Subfilo Mastigophora, Clase Zoomastigophorea, Orden Diplomonadida y Familia Hexamitidae. En este género, se distinguen diversas especies en función de los criterios de diversos autores. De acuerdo con el criterio de especificidad del hospedero que propuso Kulda (1995), se han podido 41 especies diferentes de *Giardia*, aun así según el criterio morfológico de Erlandsen (1990) el cual se basa en la disposición de las estructuras microtubulares en los cuerpos medianos de los trofozoitos identificar, pueden aceptarse tres grupos de especies. *Giardia agilis*, *Giardia muris* y *Giardia intestinalis*, también conocida como *G. duodenalis* o *G. Lamblia* (34).

Las cepas originarias exclusivamente de seres humanos son denominadas especies de *G. Lamblia* con el fin de distinguir las cepas que provienen de animales y tienen la capacidad de infectar a los humanos y se conocen como especies de *G. intestinalis* o *G. duodenalis*. En el grupo de *G. duodenalis*, algunos organismos han sido clasificados como especies según criterios morfológicos basados en microscopía electrónica (Tabla 2) (34).

Las especies del género *Giardia* han sido tradicionalmente clasificadas junto a otros protozoos flagelados patógenos para humanos. Sin embargo, *Giardia* no está estrechamente relacionada con la mayoría de estos otros flagelados. Entre los patógenos humanos, *Trichomonas vaginalis*

y *Giardia* pertenecen a la superclase Fornicata. *Giardia* es el único patógeno humano clasificado como diplomonado, mientras que *Trichomonas* pertenece a los parabasálidos. El término "diplomonado" hace referencia a la presencia de dos núcleos simétricos. Además de *Giardia*, los diplomonados incluyen especies como *Spironucleus* y *Hexamita*, que pueden ser de vida libre o parásitos de animales no humanos (34).

Las especies de *Giardia* presentan un metabolismo anaeróbico y carecen de mitocondrias, aparato de Golgi y otros orgánulos eucariotas típicos. Debido a estas características, anteriormente se pensaba que *G. duodenalis* representaba una de las ramas más antiguas en la evolución de los eucariotas. Sin embargo, estudios de secuenciación del genoma han revelado que *G. duodenalis* posee genes para muchos de estos orgánulos "ausentes", lo que sugiere que su genoma ha sido reducido secundariamente. Si bien *Giardia* es probablemente un organismo eucariota de divergencia temprana, lo hizo después de la adquisición de estos orgánulos. Un hallazgo notable ha sido la identificación de mitosomas, remanentes mitocondriales en *Giardia*. La identificación de equivalentes funcionales para otros orgánulos refuerza la idea de que *Giardia* posee un genoma y una biología celular minimizados (34).

Giardia es un protozoo flagelado anaerobio que se caracteriza por su simetría diádica y la presencia de dos núcleos simétricos en los trofozoítos. Es un parásito que afecta el intestino y puede infectar a una gran diversidad de animales, desde anfibios hasta mamíferos. Inicialmente, la clasificación de las especies de *Giardia* se basaba en el hospedero de origen, apoyada por observaciones de baja transmisión cruzada entre diferentes especies de *Giardia* y hospederos. Posteriormente, esta clasificación fue simplificada a tres especies basadas en diferencias morfológicas observadas bajo microscopía óptica: *Giardia agilis* en anfibios, *Giardia muris* en roedores y *G. duodenalis*, que presenta morfología de trofozoito similar a la del parásito humano (34).

El análisis molecular y la microscopía electrónica han revelado diferencias dentro de *G. duodenalis* que están asociadas con la especificidad del hospedero. Estas diferencias han permitido subdividir a este parásito en diversos ensamblajes o genotipos, que van desde A hasta H. Los genotipos A y B son los más comunes en humanos, mientras que los otros genotipos suelen estar presentes en otros mamíferos. Estudios filogenéticos sugieren que los genotipos A y B podrían ser considerados como especies separadas, proponiendo los nombres *G. duodenalis* para el genotipo A y *Giardia* entérica para el genotipo B. Sin embargo, aún no existe un consenso definitivo sobre la nomenclatura, y la tipificación molecular sería necesaria para identificar estos genotipos a nivel de especie. Para fines de esta revisión, se utiliza el término *G. duodenalis* para referirse a todos estos genotipos (34).

Tabla 2. Especies de *Giardia* relacionadas con el hospedero (35).

Nombre de la especie	Anfitriones	Morfología determinada por:	
		Microscopía óptica	Microscopía electrónica
<i>G. duodenalis</i>	Humanos, numerosos mamíferos	Trofozoito en forma de pera; cuerpo medio en forma de garra.	No aplica
<i>G. muris</i>	Roedores	Corto y redondeado; cuerpo medio pequeño y redondeado	No aplica
<i>G. agilis</i>	Anfibios	Largo y delgado; cuerpo medio en forma de lágrima.	No aplica
<i>G. psittaci</i>	Aves psitácidas	Igual que <i>G. duodenalis</i>	pestaña ventrolateral incompleta, sin surco marginal
<i>G. microti</i>	Roedores	Igual que <i>G. duodenalis</i>	Los quistes contienen dos trofozoitos con discos ventrales maduros.

<i>G. ardeae</i>	Garzas	Igual que <i>G. duodenalis</i>	Disco ventral y flagelo caudal similares a <i>G. muris</i>
<i>G. peramelis</i>	Quenda (pequeño marsupial)	Igual que <i>G. duodenalis</i>	No aplica
<i>G. cricetidarium</i>	Hamsters	Corto y redondeado; más cercano a <i>G. muris</i> que a otras especies	No aplica

2.3.2. Morfología

2.3.2.1. Estructura del trofozoito

G. duodenalis tiene una morfología piriforme, con un tamaño de 12-15 μm de largo por 6-8 μm de ancho, siendo convexo en la parte dorsal y con una depresión en la parte ventral llamada disco succionario o ventral. (34).

Posee diferentes estructuras internas como:

- **Núcleo:** Tiene dos núcleos con forma ovoide situados en cada mitad de forma simétrica, con un gran cariosoma central. No se evidencia la presencia de nucléolo y la membrana nuclear no está cubierta por cromatina, aunque está parcialmente revestida por ribosomas. El tamaño del genoma de *G. duodenalis*, según estudios de restricción y densitometría, es de 10,6-11,9 Mb. El contenido en C+G es del 42-48%, alcanzando el 75% en regiones específicas como el SS rRNA (34).
- **Citoesqueleto:** Está compuesto por el disco ventral o succionario, los cuerpos medianos y cuatro pares de flagelos. El citoesqueleto, especialmente el disco ventral, desempeña un papel crucial en la supervivencia de *G. duodenalis* en el intestino del hospedero. El disco succionario o ventral es una estructura cóncava rígida de 0,4 μm que contacta con las microvellosidades intestinales, conteniendo proteínas contráctiles como actina, miosina

y tropomiosina, fundamentales para la adherencia del trofozoito al epitelio intestinal. Los cuerpos medianos están localizados en la línea media del trofozoito y dorsal al flagelo caudal, siendo una estructura única del género *Giardia* que se utiliza como criterio de clasificación. En *G. duodenalis*, estos cuerpos presentan una morfología típica de garra. Este parásito posee cuatro pares de flagelos (anterolateral, posterolateral, caudal y ventral) que se originan en cuatro pares de cuerpos basales o blefaroplastos en la cara ventral del trofozoito, con sus correspondientes axonemas. Los flagelos permiten la movilidad de los trofozoítos y su papel en la adherencia al epitelio intestinal no es significativo (34).

- **Otras orgánulos:** En el citoplasma de los trofozoítos de *G. duodenalis* se encuentran ribosomas, lisosomas (conteniendo hidrolasas, DNasas, RNasas, cisteín-proteasas, etc.) y el retículo endoplásmico. Carecen de otras organelas típicas de las células eucariotas, como las mitocondrias. El complejo de Golgi solo se ha demostrado en trofozoítos durante el proceso de enquistación, formando vesículas específicas de enquistación, pero no en trofozoítos que se hayan enquistado. Además, se pueden presentar simbiontes en el citoplasma de los trofozoítos de *G. duodenalis*, con similitud a otros protozoos. Algunas cepas de *G. duodenalis* tienen un virus de RNA de doble cadena de 6,2 Kb, no envuelto, llamado GLV. Se realizó la descripción de un segundo virus de RNA presente en *Giardia* en 1996, La forma en la que los GLV infectan es realizando endocitosis y la susceptibilidad que tenga *G. duodenalis* a la infección requiere de un receptor que es específico y se encuentra en la superficie celular (34).

2.3.2.2. Estructura del quiste

Los quiste de *G. duodenalis* tienen un tamaño de 8-12 μm de largo y 5-8 μm de ancho. Su citoplasma es fino y granular que está separado de la pared quística la cual tiene un espesor 0,3

μm unida a la membrana plasmática del parásito. La pared del quiste es retráctil, con una estructura fibrilar en su porción externa se compone por 7 a 20 filamentos, mientras que la porción interna es membranosa. Estas porciones se encuentran separadas por el espacio periplásmico. Estudios que se realizaron por cromatografía gaseosa, espectrometría de masas y análisis enzimático a la pared externa del quiste pudieron demostrar que la galactosamina en forma de N-acetilgalactosamina (GalNAc) es el azúcar predominante (Fig 8) (34).

En el citoplasma del quiste se observan ocho axonemas, de los cuales seis están localizados en la zona central y dos en la periferia. Junto con los axonemas se pueden encontrar dos láminas de microtúbulos cerca a los axonemas centrales; cada lámina poder 10 a 20 microtúbulos, que representan el axostilo descrito con microscopía óptica. También pueden observarse varios ribosomas, vacuolas y fragmentos del disco ventral. Por otro lado, no se visualizan mitocondrias, aparato de Golgi y retículo endoplásmico rugoso (34).

Los quistes inmaduros son conocidos como prequistes y suelen tener dos núcleos a diferencia de los quistes maduros los cuales son tetranucleados. Los núcleos se localizan en los extremos del quiste mientras que el cariosoma nuclear puede variar de posición y encontrarse de manera central o excéntrica y la membrana nuclear carece de cromatina periférica. La actividad metabólica de los quistes solo abarca el 10-20% de la desarrollada por los trofozoítos (34).

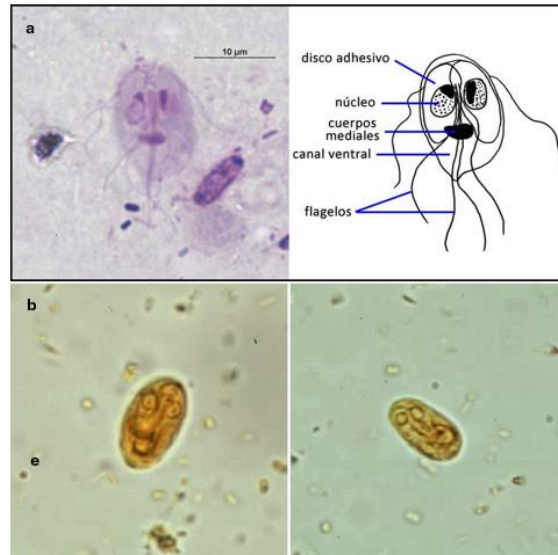


Figura 8. a. trofozoito de *G. duodenalis*(24) **b.** Quiste de *G. duodenalis* (36)

2.3.3. Ciclo de vida

En la giardiasis encontramos dos estructuras de vida; los quistes que son la estructura de resistencia y los responsables de la transmisión de giardiasis también están los trofozoítos que tienen la capacidad de sobrevivir y resistir a condiciones difíciles como el agua a baja temperatura. Ambas estructuras pueden encontrarse en las heces y ser identificadas para el diagnóstico de esta parasitosis. La infección se propaga cuando se ingieren quistes a través de agua contaminada, alimentos contaminados, o por contacto fecal-oral, como a través de manos o fómites. En el intestino delgado, la exquistación, que se desencadena por el medio ácido del estómago y la presencia de bilis y tripsina en el duodeno, los excitoítos recién formados pasan por dos divisiones celulares sin que haya una replicación de ADN entre ellas, lo que genera cuatro trofozoítos (Fig 10). Estos trofozoítos, que tienen dos núcleos, se adhieren al epitelio intestinal mediante un disco succionador ventral, donde se multiplican y provocan la enfermedad (37,48,55).

La enquistación comienza cuando el parásito se desplaza hacia la parte inferior del intestino delgado y puede distribuirse en una fase temprana y una fase tardía. En la fase temprana hay una formación de vesículas específicas de enquistamiento (ESV) que pueden transportar proteínas de la pared del quiste (CWP) hacia la membrana para construir la pared del quiste. En esta fase la célula cambia su forma y el disco adhesivo se internaliza junto con los flagelos. En la fase tardía se dividen los núcleos y pasan por una replicación de ADN, lo que da lugar a un quiste maduro con cuatro núcleos tetraploides (Fig 9). Por último, se da la maduración, en la cual los filamentos se entrecruzan para formar una pared compacta y madura. Los quistes liberados en las heces están protegidos por esta pared, lo que les permite resistir el estrés ambiental, como los rayos UV, y sobrevivir durante varias semanas en agua dulce (37,48).

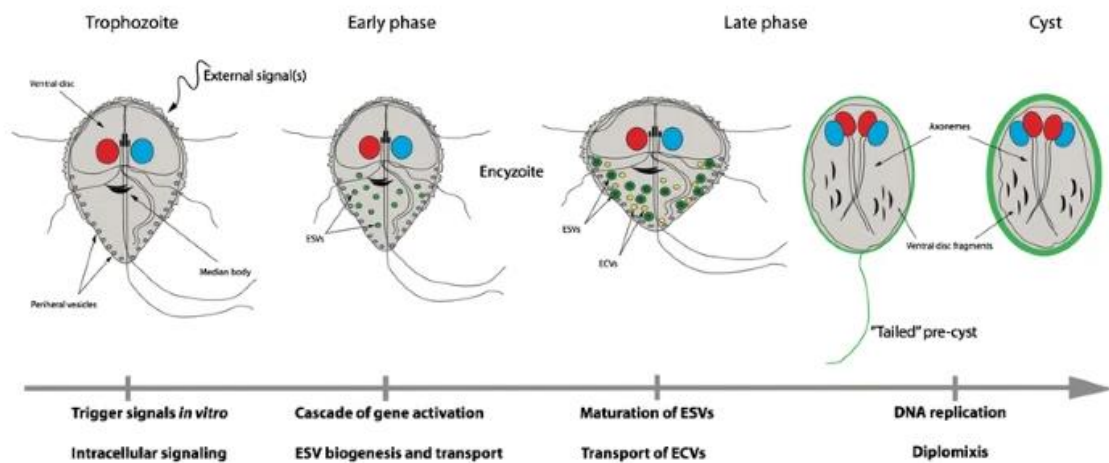


Figura 9. Ciclo de enquistamiento del trofozoito de *G. duodenalis* (37,48)

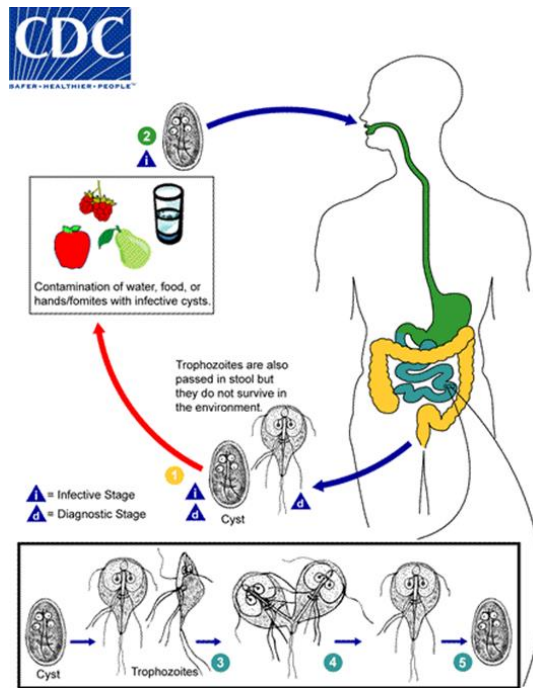


Figura 10. Diagrama ciclo de vida *G. duodenalis*. (38)

2.3.4. Epidemiología

La infección de *G. duodenalis* es global y puede manifestarse de manera endémica (específicamente a niños, con frecuentes reinfecciones) o epidémica (por ejemplo, brotes en comunidades cerradas o viajeros en áreas endémicas). Se estima que aproximadamente el 3% de las diarreas de los viajeros son causadas por el parásito *G. duodenalis*. La infección se produce al ingerir parásitos o, en menor medida, trofozoítos, que se hallan presentes en heces fecales. En el caso de los quistes, estos son altamente infecciosos causando una sintomatología característicos de giardiasis con solo el consumo de 10 quistes viables. La transmisión se produce principalmente mediante el contacto fecal-oral directo con humanos u otras especies infectadas por *G. duodenalis*; mientras que la transmisión fecal-oral indirecta, a través de agua o alimentos contaminados con quistes, puede generar brotes epidémicos. *G. duodenalis* también puede transmitirse a través de la vía sexual (34).

Se prevé que ocurren aproximadamente 280 millones de casos de giardiasis anualmente, reportados tanto en áreas urbanizadas como en regiones en desarrollo. En Asia, África y América Latina, aproximadamente 200 millones de personas muestran síntomas de giardiasis, con cerca de 500,000 casos al año. En 2004 la organización mundial de la salud clasificó la giardiasis como una enfermedad desatendida (34).

Colombia ha enfrentado grandes desafíos para mejorar la atención médica debido a su geografía diversa y a la desigualdad socioeconómica. El prolongado conflicto armado interno, que dejó una gran cantidad de desplazados entre regiones siendo considerada de las más grandes a nivel mundial, ha exacerbado las desigualdades sociales, limitando el acceso a la salud pública, especialmente entre los grupos más vulnerables como los indígenas, campesinos y niños (39).

A pesar de estas dificultades, el sistema de salud colombiano ha logrado importantes avances para mejorar el acceso a la salud pública y brindar una atención médica adecuada a sus ciudadanos. Sin embargo, la alta carga de enfermedades tropicales desatendidas, como la giardiasis, sigue afectando negativamente a las personas de bajos ingresos (39).

Gran parte de los estudios revisados se han realizado en la región central y norte del país, con pocos estudios en el sur, lo que destaca la necesidad de censos o investigaciones de alta calidad para cerrar esta brecha de datos y obtener valores confiables para la toma de decisiones (39).

Es crucial garantizar acceso a agua potable, saneamiento y sistemas de alcantarillado en los departamentos más pobres como Amazonas, Putumayo, Vaupés y Caquetá. Además, mejorar la educación y la seguridad alimentaria podría reducir las infecciones gastrointestinales en los grupos más vulnerables (39).

El sistema de salud colombiano requiere un enfoque multidisciplinario para erradicar la infección por *G. duodenalis* integrar análisis microbiológicos con proyectos en ciencias humanas y sociales, junto con campañas educativas, puede ser clave para enseñar prácticas de higiene y prevenir la propagación de *G. duodenalis* y otras enfermedades tropicales (39).

2.3.5. Signos y síntomas

La giardiasis puede presentar un amplio espectro sintomatológico desde portadores asintomáticos hasta tener cuadros de diarrea grave y el síndrome de malabsorción. Cuando se presenta una giardiasis aguda primero se da un periodo de incubación que dura entre 1 y 14 días para después presentar síntomas como dolor abdominal, diarrea, náuseas, vómitos y distensión abdominal. En la giardiasis crónicas, los síntomas son más constantes llegando a causar malabsorción y debilitamiento (40,47,50).

En pacientes con giardiasis los síntomas son muy variables y dependen de la situación inmunitaria del paciente y no tanto de la virulencia de la cepa, la dosis infectante o la duración de la infección (40). En la mayoría de los casos generados por *G. duodenalis*, la infección es asintomática. Se estima que aproximadamente el 60% de las Giardias son asintomáticas, aunque esta cifra varía según la población y la región geográfica estudiada. Cuando se genera una infección por *G. duodenalis* asintomática se observa en su mayoría en niños y adultos que se encuentran en zonas endémicas donde las reinfecciones son frecuentes. Este tipo de infección tiene un importante impacto epidemiológico. (19, 40).

La giardiasis puede llegar a resolverse de manera autolimitada y espontánea, persistiendo semanas o meses sin tratamiento en algunos casos. Aunque no es común en algunos casos infantiles la infección aguda puede tornar a una crónica. Los síntomas gastrointestinales son los más comunes e incluyen una amplia gama de síntomas como enteritis aguda (autolimitada), diarrea crónica, malabsorción con esteatorrea y pérdida de peso. Las manifestaciones

extraintestinales más frecuentemente asociadas con la giardiasis incluyen erupciones maculopapulares, urticaria, aftas, poliarteritis, colangitis, asma bronquial, iridociclitis, retinitis, entre otras (40).

2.3.6. Patogenia

Aún no se conoce completamente por qué *G. duodenalis* causa una patología, pero se considera que es multifactorial, lo cual implica factores dependientes del hospedero y del parásito. Para la patogenia de este parásito se han evidenciado diferentes alteraciones histoquímicas en la mucosa intestinal generados por la activación de linfocitos T estando en presencia de proteínas variantes de superficie (VSP), lo cual genera una atrofia en las microvellosidades del intestino disminuyendo la actividad de la lactasa, sacarosa y maltosa; menor absorción de B12, alteración en el transporte glucosa-sodio y la absorción de D-xilosa. También se observa que la virulencia del clon infectante está determinada por las VSP que expresa el parásito y por las proteasas del intestino. Los trofozoítos también liberan una cisteín-proteasa IgA1, la cual inhibe la respuesta IgA del hospedador (41).

Uno de los factores dependientes más importantes del hospedero es la inmunodeficiencia humoral como la hipogammaglobulinemia (congénita, común variable o ligada al cromosoma X) o el déficit selectivo de IgA, que afecta al 10% de la población. También se asocian ciertos antígenos de histocompatibilidad (HLA), como HLA-A1, A2, B8 y B12 con una mayor susceptibilidad a la infección. La giardiasis puede empeorar por la malnutrición calórico-proteica por la baja producción de enterocitos en las vellosidades intestinales (32, 41).

2.3.7. Factores de riesgo

Los factores de riesgo para el contagio de giardiasis se relacionan con la pobreza, el consumo de agua contaminada y dificultad en el aseo diario; situaciones que se presentan habitualmente

en países que están en desarrollo. Estos entornos facilitan la transmisión de *Giardia*, un parásito con variabilidad genética significativa y adaptaciones específicas para infectar una amplia gama de hospederos, incluyendo humanos. Entre los grupos con mayor riesgo de contraer giardiasis se encuentran los bebés y niños en guarderías, especialmente aquellos que usan pañales, así como, las personas en contacto directo con individuos infectados. Además, quienes consumen agua de fuentes no tratadas como lagos o arroyos, campistas que no practican buenos hábitos de higiene de manos o beben agua sin tratar y nadadores que ingieren agua recreativa contaminada también enfrentan un riesgo elevado. Además, las prácticas sexuales que involucran exposición a heces humanas pueden también transmitir el parásito (32).

2.3.8. Diagnóstico

2.3.8.1. Microscopía

El diagnóstico de giardiasis se considera en personas con diarrea persistente o aguda, especialmente después de realizar viajes a lugares endémicos. El método diagnóstico más usado es la microscopía óptica, donde se observan en su mayoría quistes, pero también se evidencian trofozoítos. Las muestras se examinan en fresco o tras concentración (formol-éter-acetato, sulfato de zinc, etc.), en heces frescas o conservadas (formol 10%, alcohol polivinílico, MYF). Debido a la excreción intermitente de quistes, la sensibilidad de un examen único es del 35-50%, aumentando al 70% con muestras seriadas y técnicas de concentración. En casos persistentes, se recomiendan exámenes seriados durante cuatro semanas, alcanzando una sensibilidad del 97% (42).

Este método es considerado el estándar o más común para el diagnóstico de la giardiasis, basado en la identificación microscópica de *G. duodenalis* en muestras fecales. Este procedimiento permite la detección tanto de quistes como de trofozoítos. La sensibilidad de

este método varía según se utilicen técnicas directas o de concentración, la cantidad de muestras fecales analizadas y la capacitación del personal técnico (42).

2.3.8.2. Métodos de examen directo

El diagnóstico de la giardiasis se confirma principalmente mediante la microscopía de heces. Para la preparación de muestras, se utilizan suspensiones fecales en solución salina fisiológica (NaCl 0.85%) o fijadores como el acetato de sodio-ácido acético-formalina (SAF), que permiten la observación de trofozoitos de *G. duodenalis* en muestras diarreicas o líquidas. Las preparaciones húmedas pueden examinarse sin teñir o utilizando yodo (solución de Lugol al 2-5%). En la microscopía directa de heces frescas, se pueden observar trofozoitos móviles, pero en frotis teñidos o preparados con SAF, los trofozoitos no presentan movilidad. Para preservar la morfología de los trofozoitos, es crucial fijar las muestras rápidamente. Existen kits comerciales de soluciones conservantes, como formalina tamponada al 10%, alcohol polivinílico (PVA), mertiolato-yodo-formalina y SAF (42).

En individuos asintomáticos o portadores sanos sin diarrea, es más común observar la etapa de quiste en el examen fecal. La identificación de quistes se realiza con suspensiones fecales en solución salina, Lugol o fijadores (42).

2.3.8.3. Métodos de cultivo

Aunque el cultivo de protozoos intestinales es útil para el diagnóstico, no se han establecido técnicas rutinarias de cultivo para *G. duodenalis* en laboratorios clínicos. Los cultivos de este parásito son utilizados principalmente en laboratorios de investigación para estudios que requieren grandes cantidades de trofozoitos. *G. duodenalis* puede cultivarse en sistemas monoxénicos, donde el parásito crece con una única especie de flora acompañante, o en sistemas axénicos, donde crece en ausencia de otras células vivas. El medio más común y

adecuado para el cultivo axénico de *G. duodenalis* es el medio de Diamond "TYI-S-33" modificado por Keister (42).

2.3.8.4. Pruebas de inmunodiagnóstico

Diversos métodos inmunológicos detectan antígenos de *G. duodenalis* en muestras fecales, como la contrainmunolectroforesis (90% sensibilidad, 95% especificidad) y la inmunofluorescencia directa (94% sensibilidad, 98% especificidad). La PCR presenta una mayor sensibilidad que la microscopía óptica y en comparación con el EIA, cuando se amplifica la región IGS rRNA utilizando PCR anidada (42).

Métodos serológicos como inmunofluorescencia indirecta, inmunodifusión, EIA e inmunoblot tienen sensibilidades y especificidades variables, dependiendo del antígeno utilizado, el isotipo de inmunoglobulina y la prevalencia de la infección. Aunque existen kits comerciales para detectar anticuerpos anti-Giardia, su eficacia clínica es discutible debido a la falta de diferencias significativas en la respuesta de anticuerpos entre pacientes con giardiasis sintomática y asintomática (42).

En las últimas tres décadas, se han desarrollado diversos métodos de detección de anticuerpos y antígenos para el inmunodiagnóstico de la giardiasis. Sin embargo, estos métodos siguen siendo complementarios a la microscopía fecal. Las pruebas inmunodiagnósticas para *G. duodenalis* incluyen técnicas como ELISA para la detección de anticuerpos y métodos basados en la detección de antígenos de *G. duodenalis* en muestras fecales humanas (42).

La giardiasis induce una respuesta inmunitaria, tanto humoral como celular, en la que se observan niveles elevados de IgM, IgG e IgA secretora (sIgA) durante la infección aguda. La detección de anticuerpos IgM puede indicar una infección activa, ya que sus niveles caen a valores normales dos o tres semanas después del tratamiento. Los anticuerpos IgG pueden

persistir hasta 18 meses, siendo útiles en estudios epidemiológicos. La sIgA, predominante en el líquido duodenal y la saliva de personas infectadas, es un marcador importante durante la giardiasis activa, y su detección puede ser útil en el serodiagnóstico. Ensayos como ELISA, IFA y Western blot se han utilizado para el serodiagnóstico de la giardiasis, aunque la persistencia de anticuerpos tras el tratamiento agudo puede complicar su interpretación (42).

2.3.8.5. Métodos moleculares

El diagnóstico molecular de la giardiasis, aunque no rutinario en laboratorios clínicos, se emplea principalmente en investigaciones para la subtipificación de *G. duodenalis*. Los genes diana comunes incluyen los que codifican para el ARN ribosómico de subunidad pequeña (SSU), la glutamato deshidrogenasa (gdh), la triosafosfato isomerasa (tpi) y la β -giardina. Estos genes permiten clasificar *G. duodenalis* en al menos ocho grupos genéticos distintos (A a H), de los cuales los ensamblajes A y B son los más comunes en humanos (42).

La PCR en tiempo real, un método molecular que ha mostrado alta sensibilidad y especificidad en la detección de *G. duodenalis*, se ha comparado favorablemente con otras técnicas diagnósticas, como ELISA y la microscopía fecal. Aunque la PCR ha demostrado ser más sensible en humanos, su rendimiento en otros animales, como perros, ha sido variable. Métodos basados en PCR también se han utilizado para detectar *G. duodenalis* en fuentes ambientales, como agua y aguas residuales (42).

2.3.9. Relación entre *G. duodenalis* y la microbiota intestinal

Las interacciones entre los parásitos y la microbiota intestinal pueden tener repercusiones significativas en la nutrición infantil. *G. duodenalis* es conocida por causar malabsorción, esteatorrea y diarrea, y estudios preliminares han mostrado una mejora en los niveles séricos de vitamina B12 tras el tratamiento para la giardiasis. La vitamina B12, una coenzima esencial

que los humanos no pueden sintetizar por sí mismos es proporcionada por la microbiota intestinal. Dado que la producción de vitamina B12 se limita a ciertas bacterias intestinales, cualquier alteración en la microbiota podría reducir la disponibilidad de esta vitamina para el organismo humano (7).

Los avances en la secuenciación de ADN de próxima generación permiten realizar comparaciones taxonómicas precisas entre las microbiotas intestinales y, al mismo tiempo, escanear el metagenoma en busca de genes funcionales específicos, como los necesarios para la síntesis de cobalamina. En este estudio piloto, se utilizaron la qPCR para parásitos y la secuenciación de ADN de última generación para investigar si la carga cuantitativa de parásitos específicos, como *G. duodenalis* y helmintos transmitidos por el suelo, influye en la composición de las comunidades microbianas intestinales. Usando la vitamina B12 como un ejemplo de nutriente producido por bacterias, se analizaron los metagenomas bacterianos como un indicador de los cambios en las funciones bacterianas asociadas con infecciones parasitarias intestinales. Este estudio preliminar, llevado a cabo en una población con alta prevalencia de parásitos intestinales, tiene como objetivo establecer la base para futuras investigaciones en esta área (7).

La síntesis de vitamina B12 ocurre principalmente en ambientes anaerobios, que incluyen especies de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*. Estos microorganismos no solo promueven la homeostasis intestinal, sino que también pueden proteger contra enfermedades inflamatorias. La vitamina B12 se absorbe en el intestino delgado, mientras que la mayor parte de la microbiota reside en el colon. Sin embargo, el intestino delgado alberga una microbiota robusta que influye en la absorción de vitaminas. Bacterias específicas son responsables de la producción de vitamina B12, y los niños infectados con *G. duodenalis* que presentan niveles

de ADN superiores a 1 fg/ μ l pueden ser incapaces de sintetizar cantidades suficientes de vitamina B12 para obtener un beneficio nutricional.

3. PREGUNTA PROBLEMAS Y OBJETIVOS

3.1 Pregunta problema

¿Cuáles son las alteraciones de la microbiota intestinal de seres humanos en presencia de *G. duodenalis*, *Entamoeba histolytica*, y *Blastocystis*?

3.2 Objetivo general

Describir las alteraciones generales ocasionadas en el microbioma humano en presencia de los parásitos protozoos *Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica* y *Blastocystis*.

3.3 Objetivos específicos

- Identificar los cambios en la composición de los principales filos bacterianos en el microbioma intestinal de individuos infectados con *Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica* y *Blastocystis*
- Evaluar el impacto de las infecciones por *Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica* y *Blastocystis* en la función del microbioma intestinal

4. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. Universo, población, muestra

4.1.1. Usuarios Directos: comunidad académica que buscan tener un panorama general de la temática, pares evaluadores quienes harán revisión del trabajo en fondo y forma.

4.1.2 Usuarios Indirectos: los autores de producción científica que son citados en la monografía, entidades gubernamentales que nutren su proceso con información científica externa.

4.2. Técnicas y procedimientos.

Inicialmente se llevó a cabo una investigación exhaustiva para identificar enfermedades gastrointestinales y parásitos asociados que pudieran afectar la salud humana. El estudio abarcó una amplia gama de patógenos y condiciones, incluyendo infecciones bacterianas, virales y parasitarias que afectan el sistema digestivo. Se prestó especial atención a parásitos como *G. duodenalis*, *E. histolytica* y *Blastocystis hominis*.

Se formuló una pregunta de investigación cumpliendo con la metodología Patient, Intervention, Comparison, Outcomes (PICO); después de esto se realizó una revisión de literatura científica por medio de una búsqueda sistemática utilizando la ecuación “Intestinal microbiota AND protozoan AND human” que abarca los principales temas a tratar, luego se limitó la búsqueda a un periodo de 6 años (2017-2023), no hubo un filtro por idioma para de esta manera realizar una investigación con información actualizada, se depuraron los artículos por título y resumen, lo cual dejó como resultado los artículos disponibles para lectura a cerca de la alteración de la microbiota intestinal humana en presencia de protozoarios.

La búsqueda se realizó en dos bases de datos siendo estas Pubmed y Google academic, utilizando la ecuación planteada en un inicio. Al ser un tema limitado no se generaron más filtros para realizar la selección de artículos, al realizar la lectura inicial se excluyeron los artículos que incluyen información de protozoos en animales.

5. RESULTADOS

5.1 Generalidades y caracterización de los artículos seleccionados

Se realizó una búsqueda sistemática siguiendo la metodología PRISMA (Figura 11), aplicando los criterios de exclusión mencionados en la sección de metodología, lo que resultó en un total de 37 documentos seleccionados, como se muestra en el diagrama de flujo. Estos documentos se obtuvieron a partir de dos motores de búsqueda: PubMed (7 documentos) y Google Académico (30 documentos) (51). De ellos, 25 fueron revisiones, 10 artículos originales y 2 capítulos de libros. En cuanto al idioma, el 83.78% de los documentos estaba en inglés (31 en total), y el 16.22% en español (6 documentos). La mayoría de los estudios no reportaron información específica sobre la población analizada (72.97%), mientras que el 18.92% se centró en población infantil y el 8.11% en adultos. Además, se incluyeron estudios realizados en regiones como América del Sur, África, Asia y Europa.

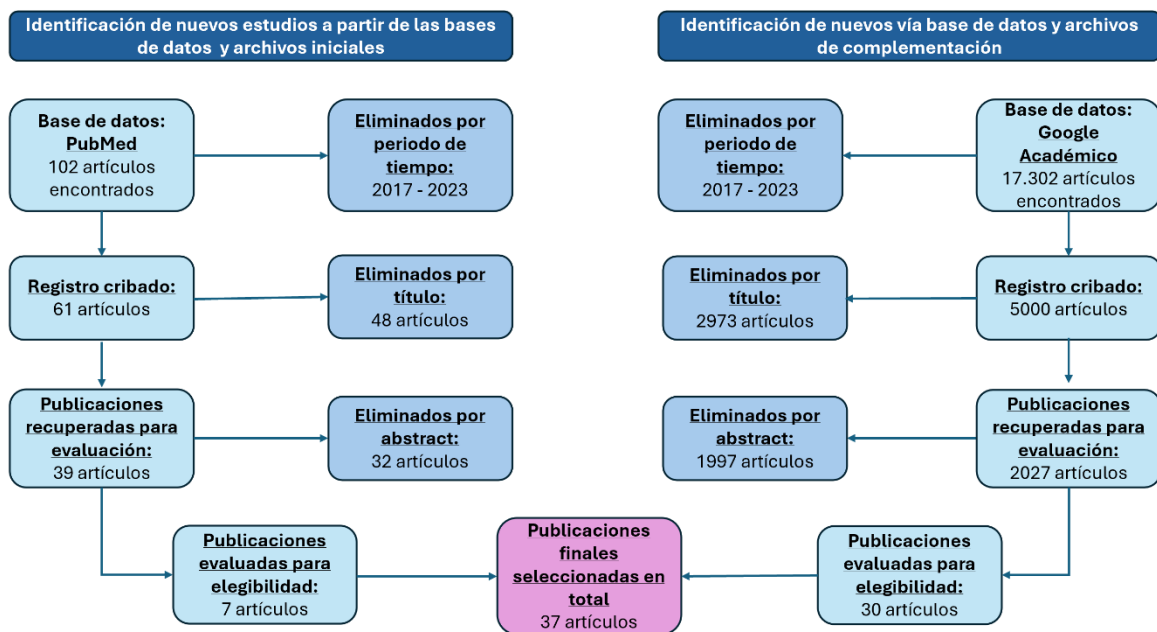


Figura 11. Diagrama de flujo PRISMA en donde se observa la selección de artículos para revisión.

5.2 Principales hallazgos sobre la microbiota intestinal en los estudios analizados

La composición de la microbioma intestinal está conformada por cuatro filos los cuales son; Firmicutes, el cual resultó ser dominante, Bacteroides, Proteobacteria y Actinobacteria (5,52)

los cuales son afectados de manera positiva, negativa o no muestran ninguna alteración, dependiendo la interacción de protozoo- microbiota intestinal según del tipo de parasitosis que está enfrentando el hospedero, también se debe tener en cuenta el papel de la mucosa intestinal como barrera protectora permitiendo la prevalencia de un microbioma sano ya que los patógenos y comensales realizan una competencia para unirse a esta barrera.(5,52)

5.2.1 *Blastocystis*

Blastocystis es el tipo de parásito que más se ha estudiado en este contexto, se ha demostrado que las personas que se encuentran colonizadas con *Blastocystis* poseen una microbiota más diversa en un 0,94 *Lactobacillus* y de las que no lo están, este protozoo, en su mayoría, se ha visto altamente relacionado con una disminución del filo Proteobacteria, la clase *Enterobacteriaceae*, más específicamente el género *Bacteroides* con sus enterotipos, además de los géneros *Streptococcus* y *Lactobacillus* y por el contrario se evidencia un aumento de la clase *Clostridia* en el género *Faecalibacterium*. *Blastocystis* presenta este comportamiento tanto en países occidentalizados como en desarrollo (43).

En el estudio de Castañeda et al se analizaron 57 muestras de niños en edad escolar de Popayán, Colombia, a las cuales se les realizó una extracción de ADN, mediante PCR se detectó *Blastocystis* y por medio de microscopía se detectaron otros parásitos, también se les realizó una secuenciación de diversidad bacteriana por medio de la plataforma Illumina HiSeq utilizando un fragmento del gen ARNr 16S (5).

Con los resultados obtenidos se lograron definir los filos y familias más representativos en grupos libres y colonizados por *Blastocystis* siendo Firmicutes el filo más prevalente en ambos grupos seguido de *Bacteroidetes* del cual se visualizó una mayor presencia en el grupo libre de *Blastocystis* y seguido de Proteobacteria, este último se encontró una mayor cantidad en el grupo colonizado por *Blastocystis*, por el lado de las familias se encontró que del filo Firmicutes

las que tenían mayor presencia eran *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae* del filo *Bacteroidetes* las que tenían mayor presencia eran *Prevotellaceae*, *Rikenellaceae*, *Bacteroidaceae* (5).

No se encontró una diferencia significativa de composición en la microbiota entre el grupo colonizado y el grupo libre de *Blastocystis*, se realizó una comparación de los principales géneros bacterianos de ambos grupos y se observó una menor abundancia en los géneros *Prevotella* y *Bacteroidetes* y una mayor abundancia de *Faecalibacterium* en el grupo colonizado mientras que en el grupo libre de *Blastocystis* se observó una mayor abundancia de *Prevotella* y *Bacteroidetes* (5).

5.2.2 *E. histolytica*

Otro parásito que tiene repercusión en la microbiota intestinal es *E. histolytica*, la cual se dirige directamente a la mucosa intestinal para ocasionar alteraciones, en caso de que la barrera intestinal esté intacta el protozoo se mantendrá en la capa mucosa externa, cuando esto sucede, *E. histolytica* se alimenta de bacterias y detritos celulares formando así una infección asintomática e iniciando una interacción que potencialmente puede iniciar una infección sintomática, esto se debe a que este protozoo puede modificar la abundancia de la mucosa intestinal permitiendo penetrar la barrera mucosa lo cual puede comprometer la barrera epitelial (2).

Este protozoo se beneficia de la microbiota tomando microorganismos como *Enterobacteriaceae* generando una estimulación por estrés oxidativo para su supervivencia, también usa bacterias entéricas para poder manifestar genes asociados a la virulencia, suele verse en estado disbiótico disminuyendo *Bacteroides* y *Prevotella* y aumentando *Bifidobacterium*, *Clostridiales* y *Ruminococcaceae* además de esto es capaz de fagocitar

bacterias comensales benéficas de la microbiota sana como *Lactobacillus* y *Faecalibacterium* (2).

En casos graves de infección por *E. histolytica* se puede presentar una translocación de las bacterias de la microbiota hacia otros órganos, resultado del compromiso de la barrera epitelial al momento de disminuir la mucosa permitiendo su permeabilidad generando de esta manera una infección sintomática (2).

5.2.3 *G. duodenalis*

Por último se encuentran las alteraciones generadas por *G. duodenalis*, en diferentes estudios se demostró el aumento de *Prevotella* (7), de *Bifidobacterias* y *Escherichia coli* (3) en presencia de este protozoo y su incremento es directamente proporcional a la carga parasitaria y en ausencia de *G. duodenalis* se puede evidenciar una notable presencia de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (7).

La patogenicidad generada por *G. duodenalis* es multifactorial donde intervienen eventos mecánicos y se generan secreciones de componentes citopáticos e inmunomoduladores los cuales generan una disbiosis de la microbiota intestinal ya que alteran el equilibrio de la misma y la desestabiliza afectando la respuesta inmune del hospedero (10).

De la misma manera que sucede con *E. histolytica*, *G. duodenalis* es capaz de disminuir la cantidad de mucosa intestinal y aumentar la permeabilidad de la barrera epitelial generando patogénesis y permitiendo la infección de bacterias intestinales oportunistas. (41)

Para el caso de *G. duodenalis* se tomó en cuenta el estudio de Mejía et al en el cual se utilizaron 37 muestras de heces de niños argentinos a las que se le realizó una PCR para detectar helmintos además de algunos protozoos entre ellos *G. duodenalis* y se realizó una secuenciación del genoma para la microbiota de las muestras, también se analizaron las muestras por grupos

siendo estos lo no infectados, infectados con *Giardia duodenalis*, infectados con *helminos*, coinfección *G. duodenalis-helminos* (7).

La secuenciación dio como resultado la disminución de la de la diversidad de la microbiota que está ligada al aumento de carga de *G. duodenalis* siendo esta relación significativa, también se evidenció esta disminución de la diversidad en presencia de coinfección *G. duodenalis-helminos*, la taxonomía del microbioma mostró un cambio de Firmicutes hacia un evidente aumento de *Prevotella* siendo este cambio mayor en infecciones solo de *G. duodenalis* (7).

6. DISCUSIÓN

La microbiota intestinal desempeña un papel esencial en la salud humana, participando en funciones metabólicas, inmunológicas y de protección contra patógenos. Está compuesta por muchos microorganismos, cuya diversidad y equilibrio son fundamentales para mantener un intestino saludable y prevenir enfermedades. La microbiota regula procesos clave como la digestión, la síntesis de vitaminas, la estimulación del sistema inmune y la protección frente a infecciones generando una homeostasis. Alteraciones en su composición, conocidas como disbiosis, están asociadas a múltiples condiciones y comorbilidades como el intestino irritable que hace más susceptible al hospedero (71) (72) (73).

La relación entre los protozoos intestinales y la microbiota humana ha emergido como un campo de estudio de gran relevancia científica. Protozoos como *G. duodenalis*, *Blastocystis* y *E. histolytica* no solo tienen una importancia clínica significativa por su capacidad de causar patologías gastrointestinales, sino que también han comenzado a ser estudiados desde la perspectiva de su interacción con el ecosistema microbiano intestinal. (2)

G. duodenalis, ampliamente conocida por ser el agente causal de la giardiasis, tiene un impacto considerable en la composición de la microbiota intestinal. En un estudio realizado en niños

infectados sólo con *G. duodenalis* en comparación con los niños no infectados, los datos de secuenciación de ADN mostraron que la infección por este protozoo altera significativamente la comunidad bacteriana intestinal, reduciendo la diversidad microbiana y promoviendo un estado proinflamatorio. Estos cambios pueden facilitar la persistencia y virulencia del parásito, ya que la alteración del equilibrio microbiano disminuye las defensas naturales del hospedero. La disbiosis inducida por *G. duodenalis* podría no solo perpetuar la infección, sino también comprometer la recuperación de la homeostasis intestinal tras la erradicación del parásito(7). Mientras que, en un estudio realizado en Costa de Marfil, se demostró que la abundancia relativa de *Bifidobacterias* y *Escherichia* aumenta tras la infección con *G. duodenalis*. Lo cual demuestra la importancia de la población y factores que pueden influir en ella como su zona geográfica, factores ambientales, dietéticos y genéticos ya que esto puede llegar a generar diferentes reacciones en la microbiota intestinal (4)

Además las alteraciones generadas por Giardia pueden afectar la barrera intestinal provocando que se más susceptible a otros microorganismos e incluso otro tipo de patologías que tienen efectos a largo plazo, como las enfermedades inflamatorias crónicas ya que al reducir la población microbiana se genera un estado proinflamatorio que altera el sistema inmunitario del hospedero haciéndolo más accesible por dichos microorganismos (7).

Por su parte, en presencia de *Blastocystis* en individuos con síntomas gastrointestinales, un estudio sugiere que el 2% de la varianza total de la microbiota está a cargo de este parásito, teniendo en cuenta que ciertos subtipos de *Blastocystis* principalmente ST1, ST2 y ST3, podrían estar asociados con un microbioma más diverso, lo cual podría indicar una posible función comensal o incluso beneficiosa en determinados contextos (9). Sin embargo, en individuos con patologías como el síndrome del intestino irritable (SII), la presencia de *Blastocystis* se ha asociado a estados de disbiosis, lo que sugiere que su relación con la microbiota intestinal podría ser modulada por condiciones patológicas subyacentes. La

positividad de *Blastocystis*, así como, su cantidad, se asoció con una mayor diversidad alfa de la microbiota (9). En un estudio de estudiantes viajeros suecos en el cual se observa una mayor riqueza bacteriana y una menor abundancia de Bacteroides con positividad de *Blastocystis*. En otro estudio se identificaron tanto asociaciones positivas con *Blastocystis* por ejemplo, *Butyrivibrio*, *Prevotella*, *Akkermansia*, *Bifidobacterium* como asociaciones inversas para múltiples especies de Bacteroides, lo que quiere decir que la presencia de este microorganismo puede significar tanto un beneficio de forma adaptativa y protectora; como un daño dependiendo del hospedero en el que se encuentre y sus antecedentes respecto a otras patologías, también puede involucrarse la composición base del microbioma donde se a observado la disminución en Bacterides lo cual es considerado como una forma de disminuir los procesos inflamatorios (18).

E. histolytica, es responsable de la amebiasis y presenta un perfil de interacción más claramente patogénico con la microbiota intestinal. La infección por este protozoo puede desencadenar una serie de alteraciones en la composición microbiana del intestino, favoreciendo la proliferación de bacterias con propiedades inflamatorias. Un estudio realizado en el norte de la India vinculó a pacientes *E. histolytica* positivos con un estado simbiótico, caracterizado por una disminución de Bacteroides, *Clostridium coccoides*, *Clostridium leptum*, *Lactobacillus*, *Campylobacter* y *Eubacterium* con un aumento correspondiente de especies de *Bifidobacterium*. La microbiota colónica descompone los carbohidratos complejos en glicanos que puede servir como fuente de nutrientes para, al mismo tiempo, también puede alimentarse de la microbiota residente esto subraya el papel de la microbiota como un factor modulador clave en la patogénesis de la amebiasis (2).

El estudio de la microbiota intestinal en el contexto de infecciones parasitarias ha abierto una ventana de posibilidades terapéuticas. A medida que se avanza en la comprensión de las complejas interacciones entre el hospedero, los protozoos y el microbioma, se analizan nuevas

estrategias para el manejo de estas infecciones. Estas intervenciones podrían no solo ayudar a restablecer el equilibrio microbiano tras la disbiosis inducida por los parásitos, sino también fortalecer la resistencia del hospedero frente a futuras infecciones. (11)

Se podría tener en cuenta en investigaciones futuras, ya que los estudios sobre la interacción tripartita entre el hospedero, los protozoos y la microbiota prometen revelar mecanismos inmunológicos y moleculares hasta ahora poco comprendidos. La identificación de perfiles microbianos específicos asociados con la resistencia o susceptibilidad a infecciones podría allanar el camino para terapias personalizadas, donde el microbioma juega un papel central en la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas. En este sentido, las terapias basadas en la manipulación de la microbiota podrían reducir la dependencia de tratamientos farmacológicos, mitigar los efectos de la resistencia a antiparasitarios y mejorar los resultados clínicos en pacientes con infecciones protozoarias. (7)

Por lo cual la investigación en torno a la relación entre los protozoos intestinales y la microbiota humana no solo está desentrañando nuevas dimensiones de la interacción parasitaria, sino que también está generando nuevas expectativas para el desarrollo de terapias innovadoras. La modulación del microbioma intestinal podría convertirse en una herramienta fundamental para el manejo de las infecciones parasitarias, mejorando tanto la eficacia del tratamiento como la calidad de vida de los pacientes. (2)

7. CONCLUSIONES

Las infecciones por protozoos patógenos como *G. duodenalis*, *E. histolytica* y *Blastocystis* producen alteraciones en la microbiota intestinal, caracterizadas por la disminución de especies benéficas y el aumento de bacterias oportunistas. Estas infecciones afectan el equilibrio inmunológico del hospedero produciendo metabolitos proinflamatorios, lo que aumenta la vulnerabilidad a otras infecciones y ayuda al desarrollo de enfermedades inflamatorias

crónicas. Además, la interacción entre la barrera epitelial intestinal y los protozoos puede llegar a afectar la integridad de dicha barrera ayudando así a la translocación bacteriana y permitiendo patologías sistémicas.

En cuanto a *Blastocystis*, los efectos de la parasitación pueden ser distintos según el subtipo y el estado de salud del hospedero. En algunos casos, *Blastocystis* puede asociarse a una mayor diversidad del microbioma intestinal, lo que podría ser benéfico para la estabilidad del microbioma. Aun así, en personas que poseen patologías como el síndrome del intestino irritable, la presencia de *Blastocystis* puede llegar a empeorar la disbiosis y los síntomas clínicos. En estos estudios se destaca la posibilidad de que la modulación del microbioma intestinal sea una estrategia terapéutica prometedora, capaz de mejorar los resultados clínicos.

La infección por *G. duodenalis* se asocia a una disbiosis significativa en la microbiota intestinal, la cual está caracterizada por un aumento de bacterias como *Prevotella*, *Bifidobacterias* y *Escherichia coli*. Esta modificación en la microbiota puede alterar la integridad de la mucosa intestinal, facilitando la patogénesis y aumentando el acceso a la barrera epitelial, lo que permite la entrada de bacterias oportunistas. La patogenia de *G. duodenalis* puede deberse a varios factores, incluyendo eventos mecánicos y también la secreción de componentes citopáticos que alteran el equilibrio inmunológico del hospedero, alargando la infección y alterando la homeostasis intestinal.

Este protozoo genera un estado proinflamatorio que desestabiliza la respuesta inmune del hospedero, lo que no solo facilita la persistencia del parásito, sino que también alarga la adecuada recuperación de la homeostasis intestinal tras la erradicación del parásito

Se concluye que *E. histolytica* tiene una interacción más patogénica con la microbiota intestinal. La infección por este parásito altera la composición de la microbiota, promoviendo el crecimiento de bacterias con propiedades inflamatorias, lo que genera una disbiosis y un mayor

riesgo de enfermedades inflamatorias. Al darse una translocación de ciertas bacterias pertenecientes al microbioma intestinal a través de una barrera epitelial comprometida gracias a *E. histolytica*, se puede desencadenar respuestas inmunitarias sistémicas, agravando los síntomas. Además, este parásito es capaz de fagocitar bacterias comensales beneficiosas, afectando la homeostasis intestinal. En casos graves, la infección por *E. histolytica* puede permitir el paso de bacterias hacia otros órganos debido a la ruptura de la barrera epitelial, lo que contribuye a infecciones más severas.

8. LIMITACIONES

A lo largo de esta revisión se encontraron algunas limitaciones como lo es la poca información acerca del tema influyendo en este factor variables como el rango de tiempo en el que se realizó la búsqueda de artículos, además del hospedero de los parásitos en una gran cantidad de artículos los cuales estaban centrados en animales y aunque se tomaron en cuenta los protozoos de los que se encontró más información aun así era más reducida de lo que se esperaba.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Even G, Lokmer A, Rodrigues J, Audebert C, Viscogliosi E, Segurel L, et al. Changes in the Human Gut Microbiota Associated With Colonization by Blastocystis sp. and Entamoeba spp. in Non-Industrialized Populations. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:533528.
2. Leon-Coria A, Kumar M, Chadee K. The delicate balance between Entamoeba histolytica, mucus and microbiota. *Gut Microbes.* 2020;11(1):118-25.
3. von Huth S, Thingholm LB, Kofoed PE, Bang C, Ruhlemann MC, Franke A, et al. Intestinal protozoan infections shape fecal bacterial microbiota in children from Guinea-Bissau. *PLoS Negl Trop Dis.* 2021;15(3):e0009232.
4. Petri WA. Host protective mechanisms to intestinal amebiasis. *Trends Parasitol.* 2021;37(2):10-12.
5. Castaneda S, Munoz M, Villamizar X, Hernandez PC, Vasquez LR, Tito RY, et al. Microbiota characterization in Blastocystis-colonized and Blastocystis-free school-age children from Colombia. *Parasit Vectors.* 2020;13(1):521.
6. Dubik M, Pilecki B, Moeller JB. Commensal Intestinal Protozoa-Underestimated Members of the Gut Microbial Community. *Biology (Basel).* 2022;11(12).
7. Mejia R, Damania A, Jeun R, Bryan PE, Vargas P, Juarez M, et al. Impact of intestinal parasites on microbiota and cobalamin gene sequences: a pilot study. *Parasit Vectors.* 2020;13(1):200.

8. Fekete E, Allain T, Siddiq A, Sosnowski O, Buret AG. *Giardia* spp. and the Gut Microbiota: Dangerous Liaisons. *Front Microbiol.* 2020;11:618106.
9. Chacón ND, De la Parte MA. *Blastocystis* sp. en humanos: actualización y experiencia clínico-terapéutica. *Bol Venez Infectol.* 2017;28(1):5-14.
10. Del Coco VF, Molina NB, Basualdo JA, Córdoba MA. [*Blastocystis* spp.: Advances, controversies and future challenges]. *Rev Argent Microbiol.* 2017;49(1):110-8.
11. Radman NE, Gamboa MI, Mastrantonio Pedrina FL, editores. *Parasitología comparada. Modelos parasitarios.* La Plata: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata; 2017. Disponible en: https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/149159/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
12. Viam Aa. “Aportaciones Sobre La ultraestructura de *Blastocystis hominis*” 2003:35.
13. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Blastocystis* sp. [Internet]. Atlanta: CDC; 2019 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/blastocystis/index.html>
14. Cañete Villafranca R, Pérez de Rojas J. Infección por *Blastocystis* sp.: revisión de la literatura. *Rev Med Electrón.* 2012;34(5):1-10.
15. Jimenez PA, Jaimes JE, Ramírez JD. A summary of *Blastocystis* subtypes in North and South America. *Parasit Vectors.* 2019;12(1):376.
16. Méndez A. *Blastocystis: un enigma parasitario* [Internet]. 2020 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.doctoralbertomendez.com/medicina-funcional/blastocystis-un-enigma-parasitario>
17. Fonte Galindo L, Méndez Sutil Y, Moreira Perdomo Y. Patogenicidad de *Blastocystis* sp.: evidencias y mecanismos. *Rev Cubana Med Trop.* 2014;66(3):17-xx.
18. Cinek O, Polackova K, Odeh R, Allassaf A, Kramna L, Ibekwe MU, et al. *Blastocystis* in the faeces of children from six distant countries: prevalence, quantity, subtypes and the relation to the gut bacteriome. *Parasit Vectors.* 2021;14(1):399.
19. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST). Diferentes especies del género *Entamoeba dispar* [Internet]. 2022 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/parasitos/entamoeba-histolitica>
20. Fundación IO. *Entamoeba histolytica* [Internet]. 2023 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://fundacionio.com/salud-io/enfermedades/parasitos/entamoeba-histolitica>
21. Sherris JC, editor. *Sherris Microbiología Médica.* 6.^a ed. Capítulo 52: Sarcomastigophora. Amebas. McGraw-Hill; 2020.
22. Marchat La, Hernandez-de la Cruz ON, Ramirez-Moreno E, Silva-Cazares MB, Lopez-Camarillo C. Proteomics approaches to understand cell biology and virulence of *Entamoeba histolytica* protozoan parasite. *J Proteomics.* 2020;226:103897.
23. Martínez FpR. *Taxonomía y filogenética del género Entamoeba: una revisión histórica;* 2010
24. ResearchGate. Fotografía y esquema de un trofozoíto de *G. muris* [Internet]. [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: https://www.researchgate.net/figure/Figura-5-Fotografia-Izquierda-y-esquema-derecha-de-un-trofozoito-de-G-muris-El_fig4_280086859/actions#reference
25. Alamy. Imágenes de quistes de *Entamoeba histolytica* [Internet]. 2024 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.alamy.com/stock-photo/entamoeba-histolitica-cyst.html?sortBy=relevant>
26. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Amebiasis* [Internet]. 2019 [citado 2024 Nov 20]. Available from: <https://www.cdc.gov/dpdx/amebiasis/index.html>.

27. Cui Z, Li J, Chen Y, Zhang L. Molecular epidemiology, evolution, and phylogeny of *Entamoeba* spp. *Infect Genet Evol.* 2019;75:104018.
28. Austin ACRL. *Entamoeba histolytica infection* [Internet]. 2023 [citado 2024 Nov 20].
29. Guillen N. Pathogenicity and virulence of *Entamoeba histolytica*, the agent of amoebiasis. *Virulence.* 2023;14(1):2158656.
30. Castaño JH, Montoya MN, Ortiz MC, Pinilla AE. Amebiasis intestinal: revisión de la literatura y experiencia clínica. *Rev CES Med.* 2007;21(1):53-60. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922007000100006
31. Tanyuksel M, Petri WA, Jr. Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16(4):713-29.
32. González M, Rodríguez Z, Gómez C. Giardiasis: diagnóstico, tratamiento y prevención. *Rev Cienc Médicas* [Internet]. 2018 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/images/revista/68_1/PDF/Giardiasis.pdf
33. Delgado de las Cuevas GE. *Giardia y giardiasis: generalidades y carácter zoonótico* [Internet]. 2015 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.socivesc.es/publicaciones/43-publicaciones-de-socivesc/106-giardia-y-giardiasis-generalidades-y-caracter-zoonosico>
34. Soriano MJA. *Giardia and Giardiasis*. Valencia: Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Doctor Peset Aleixandre; 2017.
35. Adam RD. *Giardia duodenalis: biology and pathogenesis*. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2021.
36. Câmara B. *Giardia lamblia (G. duodenalis, G. intestinalis)* [Internet]. 2014 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.biomedicinapadrao.com.br/2014/03/giardia-lamblia-g-duodenalis-g.html>
37. Einarsson E, Svärd SG. Encystation of *Giardia intestinalis*—a Journey from the Duodenum to the Colon. *Current Tropical Medicine Reports.* 2015;2(3):101-9.
38. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Giardiasis. *CDC Yellow Book 2024* [Internet]. 2024 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2024/infections-diseases/giardiasis>
39. Martínez Mlo, General D, Alvarado Fep, Pública . Evaluación De Riesgos *Giardia Spp. Y Cryptosporidium Spp. Agua Para Consumo Humano En Colombia.* 2022.
40. INSST. *Giardia lamblia (Giardia duodenalis, Giardia intestinalis)* [Internet]. 2022 [citado el 20 de noviembre de 2024].
41. Allain T, Buret AG. Pathogenesis and post-infectious complications in giardiasis. *Adv Parasitol.* 2020;107:173-99.
42. Abdullaevna I. *Giardia lamblia* infection: review of current diagnostic strategies for children. *Bukhara State Med Inst Abu Ali Ibn Sino.* 2023;4(6)
43. Iancu MA, Profir M, Rosu OA, Ionescu RF, Cretoiu SM, Gaspar BS. Revisiting the Intestinal Microbiome and Its Role in Diarrhea and Constipation. *Microorganisms.* 2023;11(9).
44. Naiyer S, Bhattacharya A, Bhattacharya S. Advances in *Entamoeba histolytica* Biology Through Transcriptomic Analysis. *Front Microbiol.* 2019;10:1921.
45. Wawrzyniak I, Poirier P, Viscogliosi E, Dionigia M, Texier C, Delbac F, et al. Blastocystis, an unrecognized parasite: an overview of pathogenesis and diagnosis. *Ther Adv Infect Dis.* 2013;1(5):167-78.
46. Tan KS. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21(4):639-65.
47. Ankarklev J, Jerlstrom-Hultqvist J, Ringqvist E, Troell K, Svärd SG. Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(6):413-22.
48. Svärd SG. Encystation of *Giardia intestinalis*—a journey from the duodenum to the colon. *Curr Trop Med Rep.* 2015;2(3):101-9.

49. Evidencia MIBel. *Giardiasis* [Internet]. 2024 [citado el 20 de noviembre de 2024].
50. Werner Apt B. Infecciones por parásitos más frecuentes y su manejo. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2014;25(3):485-528.
51. Campos. Diagrama de flujo PRISMA 2020 [Internet]. 2021 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://bibliotafe.com/2021/06/23/diagrama-de-flujo-prisma-2020/>
52. Chabe M, Lokmer A, Segurel L. Gut Protozoa: Friends or Foes of the Human Gut Microbiota? *Trends Parasitol*. 2017;33(12):925-34.
53. Partida-Rodriguez O, Serrano-Vazquez A, Nieves-Ramirez ME, Moran P, Rojas L, Portillo T, et al. Human Intestinal Microbiota: Interaction Between Parasites and the Host Immune Response. *Arch Med Res*. 2017;48(8):690-700.
54. Scanlan PD, Marchesi JR. Micro-eukaryotic diversity of the human distal gut microbiota: qualitative assessment using culture-dependent and -independent analysis of faeces. *ISME J*. 2008;2(12):1183-93.
55. Gomes LF-S, Alves N, Dallago B, Moraes A, Carvalho JL, Nitz N, et al. Uncovering the effects of *Giardia duodenalis* on the balance of DNA viruses and bacteria in children's gut microbiota. *Acta Trop*. 2023;247
56. Department of Medical Parasitology, Faculty of Medicine, Cairo University. Intestinal parasites-gut microbiota interactions: a review. *J Egyptian Soc Parasitol*. 2023;53:10
57. Mumcuoglu I. Interactions between Parasites and Human Microbiota. *European Journal of Therapeutics*. 2019;25(1):6-11.
58. Uluşan Bağcı O, Caner A. The interaction of gut microbiota with parasitic protozoa. *J Parasit Dis*. 2022;46(1):8-11.
59. Baselga A, Gómez Rodríguez C. Diversidad alfa, beta y gamma: ¿cómo medimos diferencias entre comunidades biológicas?. *Nova Acta Científica Compostelana*. 2019;26 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://revistas.usc.gal/index.php/nacc/article/view/6413>
60. Clínica Universidad de Navarra. *Célula caliciforme* [Internet]. 2023 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/celula-caliciforme>
61. Bush LM. Generalidades sobre las infecciones por clostridium. *MSD Manuales* [Internet]. 2023 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/bacterias-anaerobias/generalidades-sobre-las-infecciones-por-clostridios?ruleredirectid=752>
62. Clínica Universidad de Navarra. *Cultivo* [Internet]. 2023 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/cultivo>
63. Unilabs. ¿Qué es el enterotipo? *Glosario Unilabs* [Internet]. 2024 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.unilabs.es/glosario/enterotipo>
64. Galiano A. *Mediclopedia: diccionario ilustrado de términos médicos* [Internet]. Iqb.es. [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.iqb.es/diccio/e/er.htm>
65. Empendium.com. Tipos de hipersensibilidad [Internet]. 2024 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://empendium.com/manualmibe/tratado/chapter/B76.VIII.A.1>
66. Alcolado P. Conceptos e índices relacionados con la diversidad [Internet]. Instituto de Oceanología; 1998. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Pedro-Alcolado-2/publication/265963780_Conceptos_e_indices_relacionados_con_la_diversidad/links/54662c150cf25b85d17f5abd/Conceptos-e-indices-relacionados-con-la-diversidad.pdf
67. Eufic.org. ¿Qué es el microbioma y por qué es importante? [Internet]. 2021 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.eufic.org/es/produccion-de-alimentos/articulo/que-es-el-microbioma-y-por-que-es-importante/>

68. Galeano JA, López Herrera A, Parra Suescún J. La adición de cepas probióticas modula la secreción de mucinas intestinales en íleon de cerdos en crecimiento. *Rev CES Med Zootec.* 2015;10(2):150-9.
69. Orozco E, Linder E, Téllez A. Specific detection of *Entamoeba histolytica* DNA by hemolysin gene targeted PCR [Internet]. 2001 [citado el 20 de noviembre de 2024]. https://www.researchgate.net/publication/12100585_Specific_detection_of_Entamoeba_histolytica_DNA_by_hemolysin_gene_targeted_PCR
70. Stanley SL, Tian K, Koester JP, Li E. The serine-rich *E. histolytica* protein is a phosphorylated membrane protein containing O-linked terminal N-acetylglucosamine residues [Internet]. 2021 [citado el 20 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925818949069>
71. Al-Rashidi HS, El-Wakil ES. Parasites and microbiota: dual interactions and therapeutic perspectives. *Microorganisms.* 2024;12(10):2076. [https://doi.org/10.3390/microorganisms12102076\(microorganisms-12-02076...\)](https://doi.org/10.3390/microorganisms12102076(microorganisms-12-02076...)).
72. Berrilli F, Di Cave D, Cavallero S, D'Amelio S. Interactions between parasites and microbial communities in the human gut. *Front Cell Infect Microbiol.* 2012;2:141. [https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00141\(fcimb-02-00141\)](https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00141(fcimb-02-00141)).
73. Beyhan YE, Yıldız MR. Microbiota and parasite relationship. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2023;106:115954. [https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2023.115954\(1-s2.0-S073288932300064...\)](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2023.115954(1-s2.0-S073288932300064...)).

10. ANEXOS.

Anexos	
Glosario	Se realiza un glosario de conceptos importantes para la comprensión del tema investigado
Excel búsqueda sistemática	Se genera un excel con los ítems que se deben tener en cuenta al momento de realizar una búsqueda sistemática para facilitar la lectura de los artículos y su citación.

Glosario

Células de Goblet: Las células de goblet también conocidas como células caliciformes son células las cuales su citoplasma tiene una gran cantidad de mucinas, suelen estar presentes tanto en el aparato respiratorio como en el digestivo y su función es secretar moco para de esta manera lubricar y proteger la superficie de los órganos en estos aparatos (60).

Clostridiales: Son bacterias en forma de bacilo con una coloración gram positiva el cual genera esporas las cuales se diseminan por el ambiente, también suelen ser microbiota normal del

sistema digestivo y pueden llegar a producir exotoxinas que pueden destruir tejido y afectar el sistema nervioso (61).

Cultivos axénicos: Es un cultivo puro lo que quiere decir que todos los microorganismos que crecen son de la misma cepa (62).

Diversidad alfa: La diversidad alfa es la cantidad de especies que se encuentran a nivel local (59).

Diversidad beta: Es el resultado de la división entre la diversidad alfa y la diversidad Gamma (59).

Diversidad Gamma: La diversidad alfa es la cantidad de especies que se encuentran un nivel mucho más amplio que el de la diversidad alfa (nivel regional) (59).

Enterotipo: Se refiere a la población de microorganismos que habitan en el intestino (63).

Eritrofagocitosis: El proceso de fagocitosis de un eritrocito deteriorado (64).

Gen de hemolisina HLY6: Es un gen que se encuentra en el ADN de *E. histolytica* (69)

Gen SREHP: Es una proteína de membrana única presente en *E. histolytica* (70)

Hipersensibilidad tipo I: Es el tipo de hipersensibilidad que se manifiesta en presencia de parásitos o como respuesta al ingerir elementos a los que la persona sea alérgica (65).

Índices de Shannon y Gini-Simpson: El índice de Shannon mide el promedio de incertidumbre de una predicción de que especie pertenece a un individuo al azar por otro lado el de Gini-Simpson señala la posibilidad de que dos individuos tomados al azar pertenezcan a la misma especie (66).

Microbioma: Se refiere a una comunidad de distintos microorganismos que se establecen en un lugar específico (67).

Mucinas: Son proteínas que pueden encontrarse en el moco del intestino (68).

Riqueza o uniformidad: Habla de la cantidad de los microorganismos y de que esta cantidad sea del mismo microorganismo (1).