

Características clínico-epidemiológicas de la infección por *Dientamoeba fragilis*

Memoria para optar al grado de Doctora en Medicina

Candela Menéndez Fernández-Miranda

Directores:

Azucena Rodríguez Guardado

José Fernando Fierro Roza



UNIVERSIDAD DE OVIEDO

Programa de doctorado en Biología Molecular y Celular

Abril 2021



Universidad de Oviedo
Universidá d'Uviéu
University of Oviedo

RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: Características clínico-epidemiológicas de la infección por <i>Dientamoeba fragilis</i>	Inglés: Clinical and epidemiological characteristics of <i>Dientamoeba fragilis</i> infection
2.- Autor	
Nombre: Candela Menéndez Fernández-Miranda	DNI:
Programa de Doctorado: Biología Molecular y Celular	
Órgano responsable: Universidad de Oviedo	

RESUMEN (Español)

Dientamoeba fragilis es un protozoo del tracto gastrointestinal, muy prevalente en nuestro medio y responsable de sintomatología clínica diversa, principalmente digestiva. Desde la primera descripción hace apenas un siglo, son muchos los interrogantes aún sin responder: sus diversas morfologías y el papel de cada una de ellas, su verdadera prevalencia, su modo de transmisión, su patogenicidad o su tratamiento de elección, continúan siendo fuente de controversia.

El presente trabajo tiene como objetivo principal describir las características clínicas de los pacientes diagnosticados de infección por *D. fragilis*. Como objetivos secundarios se incluyen: el estudio de la prevalencia de *D. fragilis* en contactos domiciliarios de pacientes inicialmente infectados y sus implicaciones, el análisis comparativo de la eficacia de los tratamientos empleados, el estudio de la coinfección por *Enterobius vermicularis*, y, por último, la evaluación de la patogenicidad de *D. fragilis* y de los factores de riesgo asociados a la infección por dicho protozoo.

Para el desarrollo de los citados objetivos se diseñó un estudio descriptivo, retrospectivo, en el que se incluyeron todos los pacientes diagnosticados de infección por *Dientamoeba fragilis* en la consulta de Medicina tropical del Hospital Universitario Central de Asturias entre enero de 2012 y diciembre de 2017. A todos estos pacientes se les aplicó un protocolo de recogida de datos demográficos, epidemiológicos y clínicos, para su posterior procesamiento y análisis.

D. fragilis ha demostrado ser un protozoo patógeno, responsable de múltiples síntomas, principalmente dolor abdominal, diarrea y eosinofilia, aunque es cierto que algunos pacientes infectados se encuentran asintomáticos. Los factores de riesgo asociados a la infección por *D. fragilis* son: el contacto con niños, la residencia en zona rural y la coinfección por *E. vermicularis*. Existe una elevada prevalencia de *D. fragilis* en convivientes de pacientes inicialmente diagnosticados de infección por este protozoo, muchos de los cuales se mantienen libres de síntomas, constituyendo un importante reservorio para la infección. Los dos tratamientos empleados en nuestro medio: metronidazol y paromomicina presentan tasas de curación similares, siendo la coinfección por *E. vermicularis* el único factor que se ha asociado al fracaso terapéutico.



Universidad de Oviedo
Universidá d'Uviéu
University of Oviedo

RESUMEN (Inglés)

Dientamoeba fragilis is a protozoan of the gastrointestinal tract, which is very prevalent in our environment and responsible for diverse clinical symptoms, mainly digestive. Since the first description just a century ago, there are many unanswered questions. Some of these questions include its different morphologies and the role of each of them, its actual prevalence, the mode of transmission, its pathogenicity, and the treatment of choice, which continue to be source of controversy.

The main objective of the present work is to describe the clinical characteristics of patients diagnosed with *D. fragilis* infection. The secondary objectives include: the study of the prevalence of *D. fragilis* in household contacts of initially infected patients and its implications, the comparative analysis of the efficacy of the treatments used, the study of coinfection by *Enterobius vermicularis*, and, finally, the evaluation of the pathogenicity of *D. fragilis* and the risk factors associated with infection by this protozoan.

For the development of the objectives, a descriptive, retrospective study was performed. This study includes all patients diagnosed with *Dientamoeba fragilis* infection who were cared for in the Tropical Medicine Unit of the Hospital Universitario Central de Asturias, between January 2012 and December 2017. A demographic, epidemiological and clinical data collection protocol was applied to all these patients, for further processing and analysis.

D. fragilis has been shown to be a pathogenic protozoan, responsible for multiple symptoms. These symptoms mainly include abdominal pain, diarrhea and eosinophilia, however, some infected patients are asymptomatic. Risk factors associated with infection by *D. fragilis* are: contact with children, residence in a rural area, and co-infection by *E. vermicularis*. There is a high prevalence of *D. fragilis* in household contacts of patients initially diagnosed with infection by this protozoan, many of whom remain symptom-free, constituting an important reservoir for infection. The two treatments used in our setting are: metronidazole and paromomycin which show similar cure rates, with *E. vermicularis* coinfection being the only factor that has been associated with therapeutic failure.

**SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN
BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR**

*La medicina es una ciencia
de la incertidumbre
y un arte de la probabilidad
(William Osler)*

*A mi hijo José Luis,
el motor de mi vida.*

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Azucena Rodríguez Guardado, directora de esta Tesis, y también amiga, por su paciencia y su ayuda, por haber creído y confiado en mi, y por haber luchado desde el primer día porque este proyecto saliera adelante.

Al Dr. José Fernando Fierro Roza, codirector, por sus sabios y acertados consejos, por su gran apoyo, y por haberme tendido su mano siempre que lo he necesitado. A la Dra. M^a Teresa Andrés Gómez, miembro de su equipo, por estar a mi lado, y por poder contar con su ayuda y colaboración en todo momento.

A todo el personal del Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Central de Asturias, por haberme brindado la oportunidad de formarme durante los 5 años de Residencia, en los cuales se desarrolló la mayor parte de este trabajo. A Alicia, por haber sido la mejor compañera de fatigas que he podido tener durante mi Residencia, y por haberse convertido en una gran amiga.

Al personal del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Central de Asturias, en especial a Jonathan, parasitólogo de dicho laboratorio, por su contribución en el desarrollo de esta Tesis.

A la Fundación Hospital de Avilés, mi actual lugar de trabajo, y a todo su personal, por haberme acogido con los brazos abiertos. Especial mención merece el personal con el que trabajé durante la presente pandemia en la Unidad de Hospitalización Marañón Alto, porque pese a la crudeza de la situación que nos tocó vivir, demostraron su infinita valía, tanto a nivel personal como profesional.

A todos los pacientes, los incluidos en esta Tesis y los que no, porque sin ellos nada de esto sería posible.

A mis padres, Candela y José, por su paciencia, su cariño, su confianza y su apoyo incondicional, porque sin su esfuerzo y dedicación nunca habría logrado llegar a ser lo que soy hoy. A mi padre le agradezco el haberme enseñado y transmitido desde niña su forma de entender la medicina y su amor por los pacientes, gracias a lo cual he llegado hasta aquí. A mi madre, su lucha constante, su apoyo y sustento en los momentos de flaqueza, y su labor de corrección de la presente Tesis.

A mi hermano Pablo, por su gran ayuda, su inestimable asesoramiento científico y estadístico, y por estar a mi lado en este, y en todos los proyectos importantes de mi vida. A Ana, por formar con mi hermano un gran equipo, y por su apoyo en la labor de traducción.

A mi marido Luis, por ser el mejor compañero de viaje que pude elegir, por su apoyo, comprensión y cariño infinito, y por saber siempre sacarme una sonrisa cuando todo parece volverse gris. También por su gran contribución en esta Tesis, particularmente en la realización de las ilustraciones.

A mi hijo José Luis, por absolutamente todo, especialmente, por ser fuente de inspiración y amor incondicional, y porque, sin saberlo, ha sido el impulso necesario para dar fin a este trabajo.

A mis cuatro abuelos, y en especial a mi abuela Carmen, la única de la que puedo seguir disfrutando, por haberme enseñado a luchar por mis objetivos y por transmitirme su gran fortaleza.

A mi tía Carmen (Tatá) y a mi prima Carmen (Tati), por estar a mi lado, por quererme y apoyarme, y por disfrutar de mis éxitos y logros más que si fuesen suyos.

A mis tíos, primos y demás familia, por ser siempre sinónimo de apoyo, en especial en los momentos difíciles.

A mis amigas, por saber comprender mis ausencias, y por ofrecerme siempre su compañía para un rato de distracción.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Índice de figuras	Pág. i
Índice de tablas	Pág. iii
Abreviaturas y Siglas	Pág. v
1. Introducción	Pág. 1
1.1 Perspectiva histórica	Pág. 1
1.2 Clasificación y taxonomía	Pág. 2
1.3 Morfología	Pág. 3
1.4 Biología y ciclo vital	Pág. 8
1.5 Epidemiología	Pág. 10
1.6 Factores de riesgo	Pág. 13
1.7 Patogenia	Pág. 14
1.8 Sintomatología clínica	Pág. 17
1.9 Diagnóstico	Pág. 19
1.9.1 Microscopía directa	Pág. 20
1.9.2 Cultivo	Pág. 21
1.9.3 Inmunoensayo	Pág. 22
1.9.4 Reacción en cadena de la polimerasa	Pág. 23
1.9.5 MALDI-TOF MS	Pág. 24
1.10 Tratamiento	Pág. 24
1.10.1 Aminoglucósidos	Pág. 26
1.10.2 Hidroxiquinoleínas	Pág. 27
1.10.3 Macrólidos	Pág. 28
1.10.4 Nitroimidazoles	Pág. 29
1.10.5 Nitrotiazoles	Pág. 31
1.10.6 Tetraciclinas	Pág. 32
1.10.7 Otros tratamientos	Pág. 32
1.10.8 Recomendaciones actuales de tratamiento	Pág. 34
1.11 Seguimiento	Pág. 34
1.12 Prevención	Pág. 35
2. Objetivos	Pág. 37
2.1 Objetivo principal	Pág. 37

2.2 Objetivos secundarios	Pág. 37
3. Materiales y métodos	Pág. 39
3.1 Características generales	Pág. 39
3.2 Diseño del estudio	Pág. 40
3.2.1 Definición de caso y población diana	Pág. 40
3.2.2 Criterios de inclusión y exclusión generales	Pág. 40
3.2.3 Diseño de los subestudios	Pág. 41
3.2.3.1 Subestudio 1: Prevalencia de <i>D. fragilis</i> en contactos domiciliarios de pacientes infectados por <i>D. fragilis</i> . Descripción de las características diferenciales existentes entre contactos infectados y no infectados.	Pág. 42
3.2.3.2 Subestudio 2: Estudio comparativo de la eficacia de los tratamientos realizados e identificación de los posibles factores ligados al fracaso terapéutico.	Pág. 42
3.2.3.3 Subestudio 3: Estudio comparativo de casos frente a controles sanos con el fin de analizar más adecuadamente los factores de riesgo y el papel patógeno de <i>Dientamoeba fragilis</i> .	Pág. 43
3.2.4 Elección de la muestra	Pág. 44
3.3 Protocolo de recogida de datos	Pág. 45
3.3.1 Datos demográficos	Pág. 45
3.3.2 Motivo de consulta	Pág. 46
3.3.3 Datos epidemiológicos	Pág. 46
3.3.4 Anamnesis y exploración física	Pág. 47
3.4 Protocolo diagnóstico	Pág. 48
3.4.1 Pruebas hematológicas	Pág. 48
3.4.2 Pruebas bioquímicas	Pág. 48
3.4.3 Estudio coproparasitario	Pág. 49
3.4.4 Otros estudios complementarios	Pág. 52
3.5 Tratamiento	Pág. 53
3.6 Seguimiento	Pág. 53
3.7 Estudio de sesgos	Pág. 53
3.8 Análisis estadístico	Pág. 54
3.9 Declaración ética	Pág. 55

4. Resultados	Pág. 57
4.1 Características generales de los pacientes	Pág. 57
4.1.1 Características demográficas	Pág. 57
4.1.2 Características epidemiológicas	Pág. 62
4.1.3 Características clínicas	Pág. 63
4.2 Subestudio 1: Prevalencia de <i>D. fragilis</i> en contactos domiciliarios de pacientes infectados por <i>D. fragilis</i> . Descripción de las características diferenciales existentes entre contactos infectados y no infectados.	Pág. 73
4.3 Subestudio 2: Estudio comparativo de la eficacia de los tratamientos realizados e identificación de los posibles factores ligados al fracaso terapéutico.	Pág. 79
4.4 Subestudio 3: Estudio comparativo de casos frente a controles sanos con el fin de analizar más adecuadamente los factores de riesgo y el papel patógeno de <i>Dientamoeba fragilis</i> .	Pág. 84
5. Discusión	Pág. 87
5.1 Prevalencia y epidemiología	Pág. 87
5.2 Factores de riesgo	Pág. 90
5.3 Patogenicidad y sintomatología clínica	Pág. 98
5.5 Tratamiento	Pág. 108
5.6 Seguimiento	Pág. 112
6. Conclusiones	Pág. 113
7. Referencias bibliográficas	Pág. 115
Anexos	Pág. 133
Anexo 1: Protocolo de estudio <i>Dientamoeba fragilis</i>	
Anexo 2: Certificado del Comité de Ética de la Investigación del Principado de Asturias.	

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Margaret Jepps.	Pág. 1
Figura 2. Cecil Clifford Dobell.	Pág. 1
Figura 3. Representación esquemática de un trofozoito de <i>D. fragilis</i> .	Pág. 4
Figura 4. Imágenes de microscopía óptica y representaciones esquemáticas de trofozoito, quiste y prequiste de <i>D. fragilis</i> .	Pág. 4
Figura 5. Diferentes superficies celulares que presentan los trofozoitos de <i>D. fragilis</i> a través de microscopía electrónica de barrido	Pág. 5
Figura 6. Ciclo vital de <i>D. fragilis</i> .	Pág. 8
Figura 7. Población atendida en la Consulta de Medicina Tropical del Hospital Universitario central de Asturias entre 2007 y 2017.	Pág. 40
Figura 8. <i>Primers</i> utilizados para la realización de la PCR de <i>D. fragilis</i> .	Pág. 50
Figura 9. Perfiles térmicos de la PCR de <i>D. fragilis</i> .	Pág. 50
Figura 10. Representación gráfica de los datos de la PCR en tiempo real de <i>D. fragilis</i> .	Pág. 51
Figura 11. Incidencia de la infección por <i>Dientamoeba fragilis</i> por grupos de edad.	Pág. 57
Figura 12. País de procedencia de los pacientes inmigrantes incluidos en el estudio.	Pág. 60
Figura 13. Incidencia de la infección por <i>D. fragilis</i> en cada mes del año.	Pág. 63
Figura 14. Porcentaje de pacientes asintomáticos, con 1, 2, 3 y 4 ó más síntomas.	Pág. 64
Figura 15. Frecuencia de los síntomas presentados por los pacientes.	Pág. 65
Figura 16. Mucosa de colon descendente de paciente con colitis por <i>D. fragilis</i> .	Pág. 66
Figura 17. Úlcera y aftas localizadas en la mucosa del colon descendente de paciente con colitis por <i>D. fragilis</i> .	Pág. 66
Figura 18. Biopsias de colon de paciente con colitis por <i>D. fragilis</i> teñidas con hematoxilina-eosina.	Pág. 67
Figura 19. Coinfecciones más frecuentes presentadas por los pacientes.	Pág. 71
Figura 20. Coinfección por <i>E. vermicularis</i> según la procedencia de los pacientes.	Pág. 72

Figura 21. Coinfección por <i>E. vermicularis</i> por grupos de edad.	Pág. 72
Figura 22. Distribución de los pacientes en el estudio de contactos.	Pág. 73
Figura 23. Frecuencia de cada uno de los síntomas en el grupo de casos índice y en el grupo de contactos.	Pág. 76
Figura 24. Distribución de contactos infectados y no infectados por grupos de edad.	Pág. 78
Figura 25. Características microbiológicas de los pacientes curados y no curados.	Pág. 83

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>D. fragilis</i>	Pág. 3
Tabla 2. Prevalencia de <i>D. fragilis</i> en los diferentes estudios publicados	Pág. 11
Tabla 3. Tabla comparativa de los fármacos empleados en los diferentes estudios para el tratamiento de la infección por <i>D. fragilis</i> .	Pág. 25
Tabla 3 bis. Tabla comparativa de los fármacos empleados en los diferentes estudios para el tratamiento de la infección por <i>D. fragilis</i> .	Pág. 26
Tabla 4. Fórmula química y estructura molecular de los diferentes fármacos empleados a lo largo de la historia para el tratamiento de la infección por <i>D. fragilis</i> .	Pág. 33
Tabla 5. Fármacos y posologías recomendados por los CDC para el tratamiento de la infección por <i>D. fragilis</i> .	Pág. 34
Tabla 6. Características de los pacientes incluidos en el estudio.	Pág. 58
Tabla 7. Características diferenciales de los pacientes en función de su edad.	Pág. 59
Tabla 8. Características diferenciales de los pacientes según su procedencia: autóctonos, inmigrantes y viajeros.	Pág. 61
Tabla 9. Características de los pacientes con infección aguda y crónica.	Pág. 69
Tabla 10. Características diferenciales de los pacientes sintomáticos y asintomáticos.	Pág. 70
Tabla 11. Características de los casos índice y sus contactos.	Pág. 74
Tabla 12. Características de los contactos infectados y no infectados por <i>D. fragilis</i> .	Pág. 77
Tabla 13. Características de los pacientes pertenecientes a cada grupo de tratamiento.	Pág. 80
Tabla 14. Características diferenciales de los pacientes curados y no curados con la primera línea de tratamiento.	Pág. 82
Tabla 15. Características de los casos y controles incluidos en el estudio.	Pág. 84
Tabla 16. Factores de riesgo para la infección por <i>D. fragilis</i> identificados en los diferentes estudios.	Pág. 92
Tabla 17. Tabla comparativa de la frecuencia de los síntomas de los pacientes con infección por <i>D. fragilis</i> reflejados en los diferentes estudios publicados.	Pág. 100
Tabla 18. Eficacia del tratamiento con metronidazol y paromomicina en los diferentes estudios.	Pág. 109

ABREVIATURAS Y SIGLAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico.
ALT	Alanina aminotransferasa.
APIA	Asociación Pro Inmigrantes de Asturias.
APV	Alcohol polivinílico.
ARN	Ácido ribonucleico.
ARNt	Ácido ribonucleico de transferencia.
AST	Aspartato aminotransferasa.
<i>B. hominis</i>	<i>Blastocystis hominis</i> .
CDC	Centers for Disease Control and Prevention.
Cel.	Célula.
Ct	<i>Cycle treshold</i> , ciclo umbral.
D	Día.
<i>D. fragilis</i>	<i>Dientamoeba fragilis</i> .
DS	Desviación estándar.
<i>E. vermicularis</i>	<i>Enterobius vermicularis</i> .
Fig.	Figura.
g.	Gramo.
<i>G. duodenalis</i>	<i>Giardia duodenalis</i> .
GI	Gastrointestinal.
<i>G. intestinalis</i>	<i>Giardia intestinalis</i>
<i>G. lamblia</i>	<i>Giardia lamblia</i> .
H	Hora.
HUCA	Hospital Universitario Central de Asturias.
HRM	<i>High Resolution Melt</i> ; Análisis de alta resolución de fusión.
IFI	Inmunofluorescencia indirecta.

Kg.	Kilogramo.
MALDI-TOF MS	<i>Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization- Time Of Flight Mass Spectrometry.</i>
Mg.	Miligramo.
µg.	Microgramo.
MIF	Mertiolato-yodo formol.
µL.	Microlitro.
mm³	Milímetro cúbico.
PFOR	Priruvato-ferredoxin-oxidoredoctasa.
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> ; Reacción en cadena de la polimerasa.
PVA	<i>Polyvinyl alcohol</i> ; Alcohol polivinílico.
ONG	Organización no gubernamental.
OR	<i>Odds ratio.</i>
RFU	Unidades de fluorescencia relativa.
SAF	Acetato sódico-ácido acético formalina.
spp.	Especies.
<i>S. stercolaris</i>	<i>Strongyloides stercolaris.</i>
TAC	Tomografía axial computarizada.
VFR	<i>Visiting friends and relatives</i> , visitantes de amigos y familiares.
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana.
v.o.	Vía oral.
Zn-PVA	<i>Zinc polyvinyl alcohol</i> ; Alcohol polivinílico con zinc.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Dientamoeba fragilis es un protozoo de distribución mundial, aislado en el tracto gastrointestinal humano (1–8) y responsable de sintomatología clínica diversa, sobre todo digestiva, de duración e intensidad variable.

1.1. PERSPECTIVA HISTÓRICA.

El descubrimiento de *Dientamoeba fragilis* se atribuye a Charles Wenyon, protozoólogo inglés, que en 1909 describió este protozoo tras realizar un estudio parasitológico de sus propias heces (1).

Sin embargo, hasta 1918 no fue descrito por primera vez en la literatura, por parte de Margaret Jepps (Fig. 1) y Cecil Clifford Dobell (Fig. 2) (9).



Figura 1. Margaret Jepps.



Figura 2. Cecil Clifford Dobell.

Dobell, biólogo y protozoólogo inglés que dedicó gran parte de su carrera al estudio de *Dientamoeba fragilis*, escribió en 1940:

“Para los protozoólogos, si no para los médicos, Dientamoeba fragilis es ahora, quizás, la más interesante de todas las amebas intestinales del hombre: porque sabemos menos sobre ella que sobre cualquier otra, y su ciclo vital y su actividad

siguen siendo un misterio. Desde la primera vez que vi este curioso organismo, en 1917, he estado intrigado por sus peculiaridades, y he aprovechado cada ocasión para estudiarlo más a fondo; sin embargo, después de más de 20 años de trabajo y reflexión, aún estoy desconcertado..." (9).

Cien años después de su descubrimiento, y a pesar de ser una importante e infradiagnosticada causa de síntomas gastrointestinales en múltiples países (1–5) aún existen muchas dudas acerca de su ciclo vital, prevalencia, patogenicidad y tratamiento de elección.

1.2. CLASIFICACIÓN Y TAXONOMÍA.

D. fragilis fue inicialmente clasificado como una ameba por su movilidad mediante pseudópodos (9). Pronto Dobell describió las similitudes entre *D. fragilis* y otros protozoos flagelados tales como *Histomonas meleagridis* (protozoo patógeno que afecta a las aves) (10). Dobell concluyó que *D. fragilis* era un flagelado que en algún momento de la evolución había perdido los flagelos. Posteriormente, y gracias a los estudios de transmisión con microscopía electrónica llevados a cabo por Camp *et al.* (11), y a la información obtenida a partir de la secuenciación del ARN ribosomal de la subunidad 16S, se concluyó que se trata de una tricomona que carece de flagelo en su forma de trofozoito.

Dwyer *et al.* (12,13) emplearon inicialmente métodos de difusión en gel y anticuerpos fluorescentes, y posteriormente técnicas de inmunoelectroforesis (14), para demostrar las similitudes antigénicas entre *Dientamoeba*, *Histomonas* y *Tricomonas*.

En la actualidad, *Dientamoeba fragilis* es una Especie clasificada bajo el Filo Parabasalia, Clase Tritrichomonadidae, Orden Trichomonadida, Familia Dientamoebidae, Género *Dientamoeba* (Tabla 1) (1,15).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Dientamoeba fragilis*.

<i>Taxonomía</i>	<i>Clasificación</i>
Filo	Parabasalia
Clase	Tritrichomonadidae
Orden	Trichomonadida
Familia	Dientamoebidae
Género	<i>Dientamoeba</i>
Especie	<i>Dientamoeba fragilis</i>

1.3. MORFOLOGÍA.

Morfológicamente el trofozoito de *D. fragilis* (Figuras 3, 4A y 4D) es un organismo pleomorfo de tamaño pequeño, entre 5 y 15 μM , con forma redondeada u ovalada (16). Se han descrito trofozoitos de mayor tamaño (hasta 40 μM), pero únicamente procedentes de cultivo (1). En las heces frescas el citoplasma presenta una clara diferenciación endo-ectoplásmica. Los trofozoitos muestran un movimiento activo gracias a la emisión de pseudópodos hialinos, que presentan una característica forma de “abanico”, y están constituidos por lóbulos y hendiduras (1,5,17,18). La motilidad del trofozoito es dependiente de la temperatura a la que se encuentre, disminuyendo de forma considerable a bajas temperaturas (10).

En frotis teñidos con tricrómico o hematoxilina, los trofozoitos se distinguen con nitidez (Fig. 4A). Los trofozoitos pueden tener de 1 a 4 núcleos (17–20), siendo la forma binucleada la más característica, presente en aproximadamente un 60-80% de ellos (5,9,18). Los núcleos son pequeños (2-3 μM) y contienen de 3-8 gránulos de cromatina. La cromatina periférica está ausente (16); la membrana nuclear es muy fina y a menudo difícil de distinguir. En las formas binucleadas, los núcleos pueden estar unidos por un hilo fino y conector (desmosoma o centrodesmosoma), que representa la detención de la división nuclear en la telofase (10,16,17,21).

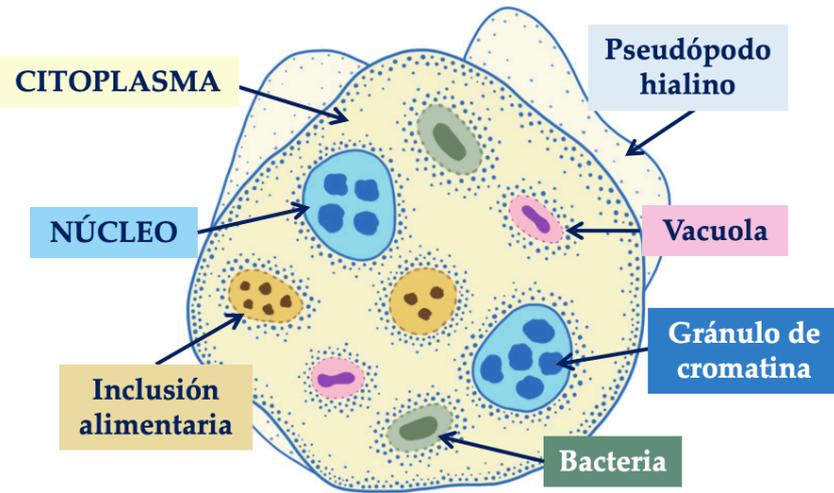


Figura 3. Representación esquemática de un trofozoito de *D. fragilis*.

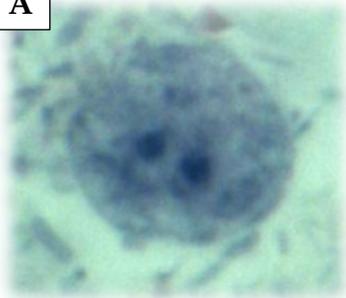
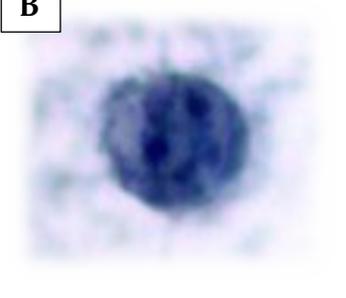
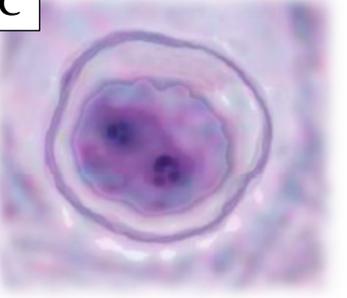
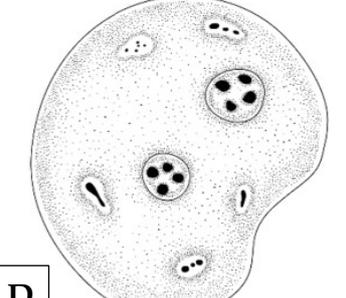
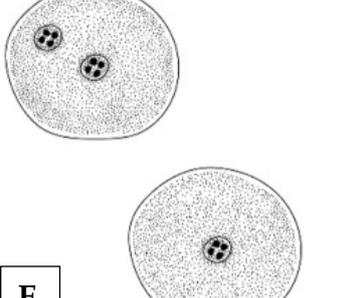
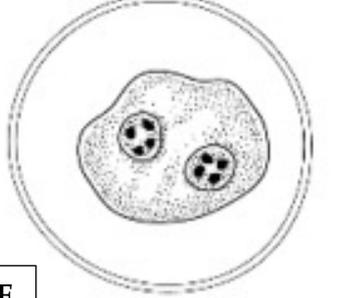
Trofozoito	Prequiste	Quiste
A 	B 	C 
D 	E 	F 

Figura 4. Imágenes de microscopía óptica y representaciones esquemáticas de trofozoito, quiste y prequiste de *D. fragilis*. A: Trofozoito de *D. fragilis* teñido con tricrómico. B: Prequiste de *D. fragilis* teñido con hematoxilina férrica; C: Quiste de *D. fragilis* teñido con hematoxilina. D, E y F: Representación esquemática de las diferentes formas de *Dientamoeba fragilis*: trofozoito (D), prequiste (E) y quiste (F).

Fuente: Stark D, Garcia LS, Barratt JL, et al. Description of *Dientamoeba fragilis* cyst and precystic forms from human samples. *J Clin Microbiol.* 2014;52(7):2680-2683.

En preparaciones húmedas, el citoplasma presenta una apariencia finamente granulada, y en frotis teñidos, es posible observar inclusiones alimentarias de diversa naturaleza (1), con bacterias, mielina o almidón de arroz en su interior (5). *D. fragilis* se alimenta mediante fagocitosis, y los productos de deshecho se acumulan en las vaculas digestivas para ser posteriormente eliminados por exocitosis (5).

Gracias a los estudios de microscopía electrónica (18) se han identificado dos poblaciones celulares dentro de los trofozoitos según la superficie celular: células lisas y rugosas (Figuras 5A y 5B). Las células de superficie rugosa representan un 90% de los trofozoitos, si bien se ha observado que con el paso del tiempo aumenta el número de trofozoitos de superficie lisa. Se han relacionado los trofozoitos de superficie lisa con etapas previas de pseudoquiste (18), pero a día de hoy se desconoce su verdadera importancia (1).

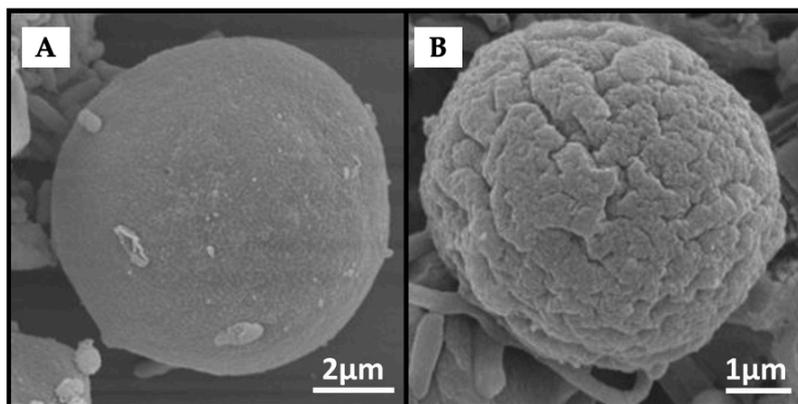


Figura 5. Diferentes superficies celulares que presentan los trofozoitos de *D. fragilis* a través de microscopía electrónica de barrido; A: superficie lisa, B: superficie rugosa.

Fuente: Stark D, Barratt J, Chan D, Ellis JT. *Dientamoeba fragilis*, the Neglected Trichomonad of the Human Bowel. *Clin Microbiol Rev.* 2016 Jul;29(3):553-80.

Banik *et al.* (18) también describieron, gracias a la microscopía electrónica de barrido, la presencia de virus endógenos en los trofozoitos de *D. fragilis*. Muchos protozoos son huéspedes de virus, los cuales en ocasiones contribuyen a su virulencia, aunque en el caso concreto de *D. fragilis* se desconocen sus implicaciones (1).

Clásicamente se había considerado que *D. fragilis* carecía de etapas de prequiste (Fig. 4B y 4E) y quiste (Fig. 4C y 4F). Sin embargo, ambos han sido descritos recientemente por Stark *et al.* (22) tras examinar nuevamente 500 frotis teñidos previamente, positivos para *D. fragilis*, por inmersión en aceite (1.000 aumentos), mediante microscopía óptica. Describieron un total de 5 quistes en 4 muestras de pacientes (prevalencia: 0,01%), y formas prequísticas o de pseudoquiste en 163 de las 500 muestras (prevalencia: 32,6%) (22).

Morfológicamente el prequiste se caracteriza por tener forma esférica compacta, con un tamaño que oscila entre 3,5 y 5 μM de diámetro, aproximadamente la mitad que el trofozoito, y presentar uno o dos núcleos (16,22). El citoplasma rara vez contiene inclusiones, es homogéneo y finamente granulado, y se tiñe con gran intensidad, lo que indica que se trata de una estructura más densa que la del trofozoito (16,22).

Los quistes se caracterizan por estar rodeados de una zona clara (espacio peritrófico) y de una pared de unos 5 μm de diámetro (22). La estructura nuclear es idéntica a la de los trofozoítos. Los quistes son binucleados, y cada núcleo contiene un cariosoma central grande y se encuentra rodeado de una fina membrana nuclear (16). El núcleo suele fragmentarse en distintos gránulos de cromatina denominados "paquetes de cromatina" (22). Dentro del quiste a menudo se observan restos de componentes flagelares, lo que sugiere que a lo largo de la evolución *D. fragilis* ha perdido el flagelo, como describió Dobell (10), adoptando una morfología similar a la amebiana, lo cual le facilita su desarrollo y movilidad en el intestino (19). Sin embargo, otros autores sostienen que *D. fragilis* no ha perdido el flagelo, sino su capacidad de expresarlo externamente (20). Los quistes rara vez se encuentran en muestras clínicas, lo cual justifica las escasas descripciones de los mismos en la literatura.

Se ha discutido la existencia de más de un genotipo de *D. fragilis*. Johnson *et al.* (23) y posteriormente Peek *et al.* (24), mediante el análisis de polimorfismo

genético de un fragmento de restricción de ARN ribosomal de la subunidad 16S amplificado mediante PCR, han descrito 2 tipos genéticamente diferentes de *D. fragilis*, siendo el genotipo 1 el más frecuente.

Existen dos estudios llevados a cabo recientemente, uno realizado por Cacciò *et al.* (25), en el que se analizaron 11 muestras y el otro por Greigert *et al.* (26) en el que fueron estudiados 23 pacientes, describiendo ambos autores la presencia de genotipo 2 únicamente en una muestra (9,09% y 4,35% respectivamente).

Las diferencias entre los genotipos 1 y 2 se estiman en aproximadamente un 2% (23,24,27). No ha sido posible demostrar diferencias en la patogenicidad de ambos genotipos (23,24).

Hussein *et al.* (28) investigaron la variabilidad genética de *D. fragilis* a partir de 30 muestras fecales de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal. Para ello emplearon el análisis de alta resolución de fusión (HRM: *High Resolution Melt*), técnica de biología molecular que se basa en el estudio y comparación de las cadenas de ADN, que comienza con la realización de una PCR convencional. Detectaron 4 perfiles o subtipos. El perfil 1 fue el predominante (50%), el perfil 2 estuvo presente en el 20% de las muestras, y los perfiles 3 y 4 se detectaron en el 16,7% y 13,4% respectivamente. En cuanto a la relación entre los perfiles de los pacientes y la clínica que presentaban demostraron que la mayoría de los pacientes con perfil 1 (73,4%) y perfil 4 (75%) de *D. fragilis* tenían diarrea crónica intermitente. Todos los pacientes con perfil 2 de *D. fragilis* tenían diarrea aguda, y los pacientes con perfil 3 de *D. fragilis* tenían hábito intestinal alternante, con fases de diarrea y otras de estreñimiento. Todas las diferencias resultaron estadísticamente significativas (28).

Recientemente, en 2020, Gough *et al.* (29) lograron secuenciar por primera vez el gen de la subunidad 28S del ribosoma de *D. fragilis* a partir de material genético obtenido mediante cultivo.

1.4. BIOLOGÍA Y CICLO VITAL.

Tanto el ciclo vital como el mecanismo de transmisión de *D. fragilis* son temas controvertidos. En cuanto a la forma de transmisión se han propuesto dos teorías principales: la vía fecal-oral (1,16,30) y la transmisión a través de un helminto que actúa como vector: *Enterobius vermicularis* (31–39) (Figura 6).

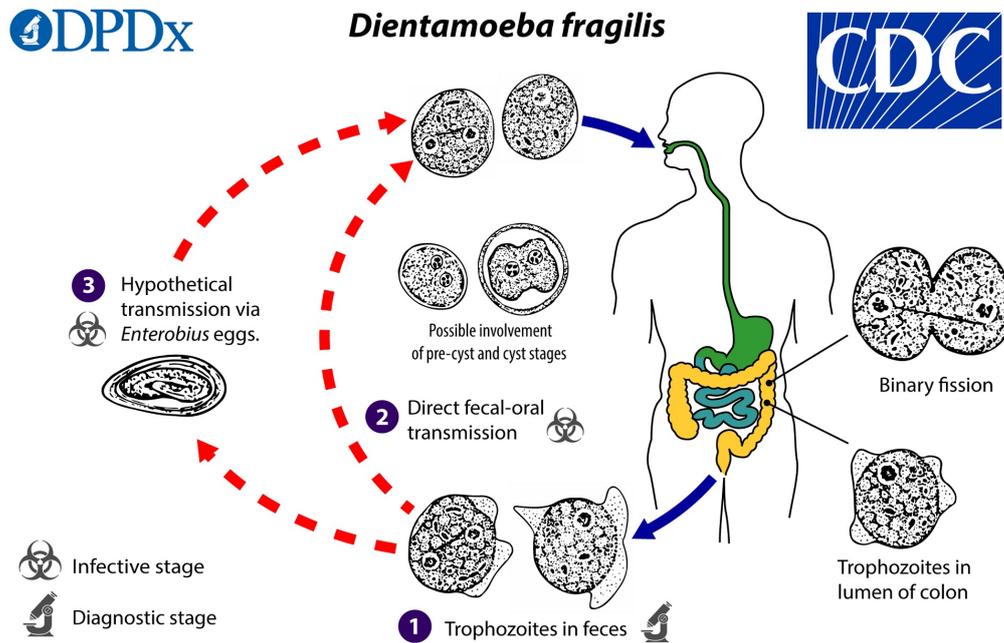


Figura 6. Ciclo vital de *D. fragilis*.

Los trofozoitos presentes en la luz intestinal tras ser ingeridos se multiplican por fisión binaria y se eliminan a través de las heces (1). Estos trofozoitos (probablemente junto con los quistes y prequistes), contaminan el agua y/o los alimentos que posteriormente son ingeridos por otros pacientes o animales (2), o bien son vehiculados a través de los huevos de helmintos, especialmente de *Enterobius vermicularis* (3) cerrándose el ciclo.

Centers for Disease Control and Prevention. "Dientamoeba fragilis infection"

Fuente: <https://www.cdc.gov/dpdx/dientamoeba/index.html>

Clásicamente se ha descrito la transmisión de *D. fragilis* por vía fecal-oral, tanto en modelos animales como humanos (1,16,20,22,30), pero dado que se ha demostrado que los trofozoitos de *D. fragilis* sobreviven poco tiempo fuera de su hospedador, cada vez son más los autores que apoyan la transmisión de *D. fragilis* a través de *E. vermicularis*, o bien la posible existencia de otras formas de resistencia, como los quistes (1).

El modelo clásico de transmisión fecal-oral implica que los trofozoitos de *D. fragilis* se multiplican en el intestino delgado del huésped (humanos o animales, entre los que se incluyen animales domésticos, de granja y salvajes) por fisión binaria, y posteriormente son excretados a través de las heces. Estos trofozoitos contaminan los alimentos y/o el agua, que posteriormente son ingeridos por otros humanos o animales hospedadores, cerrando el ciclo y perpetuando la infección (1,7,16). Como se ha explicado anteriormente, recientemente se han descrito las formas de quiste y prequiste en muestras de heces humanas, pero no está claro su papel en el ciclo vital (22).

La transmisión de *D. fragilis* vehiculada por huevos de *Enterobius vermicularis* se ha sugerido repetidamente debido a las grandes tasas de coinfección descritas en la mayoría de los trabajos (31–39).

La posibilidad de que *E. vermicularis* actúe como vector de *D. fragilis* fue postulada por Burrows *et al.* (36) en 1956. Estudios experimentales posteriores demostraron que la ingestión de huevos de *E. vermicularis* va ligada en muchas ocasiones a la infección por *D. fragilis*, asumiendo que los huevos de *E. vermicularis* albergan los trofozoitos, bien en su interior o bien en su superficie externa (38). Recientemente esta hipótesis de transmisión ha sido apoyada por estudios realizados a nivel molecular; Ögren *et al.* (31) detectaron ADN de *D. fragilis* mediante PCR en 18 (85,71%) de 21 muestras de huevos de *E. vermicularis* recogidas de pacientes con *D. fragilis*, y Röser *et al.* (34) detectaron ADN de *D. fragilis* en la superficie de los huevos de *E. vermicularis* en 39 de 99 muestras analizadas (39,39%). Todos estos hallazgos apoyan el papel de *E. vermicularis* en la transmisión de *D. fragilis*, sin embargo, la detección de ADN de *D. fragilis* en los huevos de *E. vermicularis* no confirma la existencia de organismos vivos, por lo que son necesarios más estudios experimentales para probar este punto.

Además de la vía clásica de transmisión fecal-oral y de la transmisión favorecida por *E. vermicularis*, se han postulado otras formas de transmisión

alternativas como la zoonótica, la transmisión directa persona a persona (40–43), y la transmisión mediante el consumo de aguas contaminadas (44).

El mecanismo de transmisión directo persona-persona está respaldado por la alta tasa de contactos o convivientes infectados encontrados en investigaciones previas (40–43), con prevalencias que oscilan entre un 30% (42) y un 52% (40). La posibilidad de transmisión persona a persona y la alta tasa de infección por *D. fragilis* en contactos domiciliarios explicaría la creciente prevalencia del parásito.

Con respecto a la transmisión zoonótica se ha descrito infección por *D. fragilis* en múltiples especies animales, tanto salvajes como domésticos (45–53), lo que sugiere un potencial zoonótico para la transmisión humana. Sin embargo, existen dudas sobre la reactividad cruzada con otras tricomonas encontradas comúnmente en muestras de animales, y además las prevalencias observadas en los estudios realizados son muy bajas (<1%) (42,53).

Kauppinen *et al.* (44) en 2019 han descrito por primera vez en la literatura un brote de infección por *D. fragilis* secundario a la rotura y consiguiente contaminación de una tubería de agua potable. Esta forma de transmisión, aunque es muy frecuente para otros muchos patógenos nunca había sido descrita en el caso de *D. fragilis*.

Son muchas las hipótesis de transmisión que se han postulado hasta la fecha, sin embargo y a pesar de la evidencia disponible, la forma de transmisión de *D. fragilis* sigue siendo controvertida, por lo que se requieren estudios experimentales adicionales para probar o refutar los ciclos de vida propuestos.

1.5 EPIDEMIOLOGÍA.

Dientamoeba fragilis tiene una distribución cosmopolita con tasas de prevalencia que oscilan entre 0,9-89% (4,27,54–92) dependiendo del tipo de paciente estudiado y del método diagnóstico empleado (Tabla 2).

Tabla 2. Prevalencia de *D. fragilis* en los diferentes estudios publicados.

Método diagnóstico	Referencia bibliográfica	N	País	Prevalencia	
Cultivo	Prociv. <i>et al.</i> (54)	260	Australia	1,50%	
	Rayan <i>et al.</i> (4)	168	Egipto	29,80%	
	Windsor <i>et al.</i> (55)	976	Reino Unido	2,60%	
Microscopía	Ayadi <i>et al.</i> (56)	27058	Túnez	5,50%	
	Burgaña <i>et al.</i> (57)	13983	España	8,20%	
	Calderaro <i>et al.</i> (58)	8886	Italia	1,68%	
	Crotti <i>et al.</i> (59)	3139	Italia	3,70%	
	Crotti <i>et al.</i> (60)	151	Italia	11,30%	
	Fletcher <i>et al.</i> (61)	910	Australia	12,00%	
	Girginkardesler <i>et al.</i> (62)	400	Turquía	8,80%	
	Gonzalez-Moreno <i>et al.</i>	8313	España	1,60%	
	Jimenez <i>et al.</i> (64)	3388	Venezuela	1,80%	
	Kaminsky <i>et al.</i> (65)	266	Honduras	3,00%	
	Keystone <i>et al.</i> (66)	900	Canadá	8,60%	
	Lainson <i>et al.</i> (67)	34 (VIH)	Brasil	3,00%	
	Mendez <i>et al.</i> (68)	82 (VIH)	Argentina	25,60%	
	Millet <i>et al.</i> (69)	81	EEUU	52,00%	
	Ortega <i>et al.</i> (70)	150	EEUU	1,30%	
	Preiss <i>et al.</i> (71)	123	Alemania	82,90%	
	Sarkari <i>et al.</i> (72)	1025	Irán	0,19%	
	Schuster <i>et al.</i> (73)	3719	Inglaterra	14,60%	
	Shehata <i>et al.</i> (74)	200	Egipto	8,00%	
	Stark <i>et al.</i> (75)	6750	Australia	0,90%	
	Stensvold <i>et al.</i> (93)	103	Dinamarca	11,65%	
	Windsor <i>et al.</i> (77)	857	Omán	5,10%	
	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	Aykur <i>et al.</i> (78)	490	Turquía	12,04%
		Bruijnesteijn <i>et al.</i> (79)	397	Países Bajos	32,00%
		Calderaro <i>et al.</i> (80)	491	Italia	21,40%
		Clemente <i>et al.</i> (81)	575	Italia	14,78%
		Incani <i>et al.</i> (82)	228	Venezuela	40,40%
Jokelainen <i>et al.</i> (83)		142	Dinamarca	68,30%	
Julio <i>et al.</i> (84)		176	Portugal	6,30%	
Maas <i>et al.</i> (85)		163	Países Bajos	61,96%	
Yakoob <i>et al.</i> (86)		171	Pakistán	4,00%	
Ögren <i>et al.</i> (87)		146 niños <11 a Padres: 123 Hermanos: 14 Profesores: 16	Suecia	73,00%	
Ögren <i>et al.</i> (88)		Niños: 100 Adultos: 80 Sanos: 88	Vietnam	5,00%	
Osman <i>et al.</i>		249 (3-16 años)	Líbano	60,6%	
Röser <i>et al.</i> (90)		22000	Dinamarca	43,00%	
Sarafraz <i>et al.</i> (91)	1000	Irán	2,30%		
Stark <i>et al.</i> (27)	750	Australia	5,20%		
Stark <i>et al.</i> (92)	472	Australia	5,50%		

Aquellos estudios en los que se emplean técnicas más sensibles, como es el caso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) describen generalmente prevalencias más elevadas.

Dientamoeba fragilis ha sido descrita tanto en países desarrollados como Suecia (73%) (87), Dinamarca (43-68,3%) (80,90), Países Bajos (32-61,96%) (79,85), e Italia (1,68-21,4%) (58-60,80,81), como en países en desarrollo: Venezuela (1,8-40,4%) (64,82), Egipto (8-29,8%) (4,74) o Vietnam (5%) (88) entre otros, con cifras de prevalencia muy variables, siendo reconocido actualmente como el protozoo más prevalente tras *Blastocystis hominis* (4) (Tabla 2).

En cuanto a la distribución por edad o sexo, actualmente no hay consenso científico. La mayoría de estudios describen un pico incidencia en edad pediátrica y un segundo pico de menor magnitud en adultos jóvenes (edades comprendidas entre 30 y 40 años) (2,5,90,93,94).

En relación con el sexo, la mayoría de estudios describen una mayor prevalencia en mujeres (56,95,96), aunque solo significativo en adultos en edad parental (90). Sin embargo, otros estudios no mostraron diferencias entre hombres y mujeres, o incluso describen una mayor incidencia en hombres, sobre todo en edades inferiores a los 20 años (3,94).

Tampoco hay consenso sobre la existencia de un patrón estacional en la infección por *D. fragilis*, con resultados contradictorios en la literatura. Grendon *et al.* (95) describen una mayor incidencia de infecciones en los meses de primavera y verano. Por el contrario, Röser *et al.* (90) identificaron un mayor riesgo en otoño (OR 1,17) y en invierno (OR 1,13), con resultados estadísticamente significativos, y Schure *et al.* (97) también observaron una mayor incidencia en invierno.

1.6 FACTORES DE RIESGO.

Se han descrito varios factores de riesgo para la infección por *D. fragilis*, que incluyen la presencia de otros convivientes infectados (41,42,89,98) o niños en la familia (99), la coinfección por *E. vermicularis* (31–39), el historial de viajes (72,94,100,101) o la inmunosupresión.

Stark *et al.* (42) observaron tasas de infección en contactos domiciliarios de pacientes con *D. fragilis* cercanos al 30%, muchos de ellos sintomáticos. Gray *et al.* (98) describieron un grupo familiar de cinco miembros, todos ellos con infección por *D. fragilis*, con marcada eosinofilia. Osman *et al.* (89) llevaron a cabo un estudio en el que participaron 229 niños y concluyeron que la infección por *D. fragilis* se asoció significativamente con la existencia de miembros del mismo hogar con síntomas gastrointestinales ($p=0,01$; OR 2,2 IC95% [1,2-3,9]) sin diferencias significativas en el sexo, edad, nivel socioeconómico o contacto con animales.

La coinfección por *E. vermicularis* es, como se ha comentado anteriormente, muy frecuente entre los pacientes infectados por *D. fragilis*. Este hecho ha dado lugar a que no solo sea considerado como un factor de riesgo, sino que se haya reconocido como una de las principales formas de transmisión de dicho protozoo (31,34,38).

El antecedente de viaje ha sido estudiado por varios autores (72,75,94,100,101), proponiéndose incluso que la infección por *D. fragilis* pueda ser una de las causas de diarrea del viajero (100), si bien es cierto que el número de pacientes incluidos en estos trabajos es muy pequeño.

La inmunosupresión es otro de los puntos que se ha estudiado, dado que por norma general predispone a un mayor riesgo de padecer cualquier tipo de enfermedad infecciosa. En el caso concreto de la infección por VIH, existen datos contradictorios en la literatura, Méndez *et al.* (68) describieron un porcentaje significativamente mayor de infección por *D. fragilis* en pacientes VIH positivos, mientras que Lainson R *et al.* (67) y Stensvold *et al.* (76) describen prevalencias muy

bajas en este grupo, incluso inferiores a la población inmunocompetente. Otro estudio realizado a pacientes inmunocomprometidos por diversas causas (neoplasia, inmunodeficiencia primaria o trasplante) (102) tampoco demostró una prevalencia de *D. fragilis* superior a la de la población general.

1.7 PATOGENIA.

Dientamoeba fragilis es un parásito del tracto gastrointestinal humano cuya patogenicidad ha sido discutida desde su descubrimiento. Únicamente se han publicado hasta la fecha dos estudios basados en un modelo animal (20,103) para tratar de probar este punto.

Munasinghe *et al.* (20) en 2013 diseñaron un estudio con el objeto de demostrar mediante los postulados de Koch, la patogenicidad de *D. fragilis*. En este estudio compararon dos grupos de ratones, al primero de ellos (grupo de intervención) se le inoculó *D. fragilis* (administración oral de 10^3 - 10^9 trofozoitos de *D. fragilis* cultivados *in vitro*), y al segundo (grupo control) se le administró una preparación de bacterias procedentes del cultivo de *D. fragilis*, pero sin dicho protozoo. Posteriormente se analizó el peso y las características de las heces de ambos grupos de ratones. Los autores de este estudio observaron que los ratones a los que se les habían inoculado trofozoitos de *D. fragilis* presentaban diarrea intermitente con presencia de leucocitos en heces y un adelgazamiento medio de 2,38 gramos (12% de su peso corporal total), en comparación con los ratones pertenecientes al grupo control que se encontraban asintomáticos.

Por otra parte, observaron en los ratones del grupo de intervención la eliminación de quistes de *D. fragilis* en heces, y la presencia de inflamación de la mucosa intestinal no presente en el grupo control. Este estudio demuestra que *D. fragilis* cumple los 4 postulados formulados por Robert Koch (1843-1910), y que todo agente patógeno debe presentar para ser considerado como tal:

1. El agente patógeno debe estar presente en los animales enfermos y ausente en los sanos.
2. El agente debe ser cultivado en un cultivo axénico puro aislado del cuerpo del animal.
3. El agente aislado en un cultivo axénico debe provocar la enfermedad en un animal susceptible al ser inoculado.
4. El agente debe ser aislado de las lesiones producidas en los animales de experimentación, y debe ser exactamente el mismo que el original.

En 2016 El-Gayar *et al.* (103) estudiaron nuevamente la infectividad y la patogenicidad de *D. fragilis* en un modelo animal experimental. Inocularon, por vía oral, trofozoitos de *D. fragilis* cultivados in vitro a tres grupos de ratones en distintas cantidades (10^3 , 10^5 y 4×10^6 trofozoitos/ 0,5 mL respectivamente) y lo compararon con un grupo control, al que se administraron 0,5 mL de un medio de cultivo libre de patógenos. Durante el periodo de estudio no se observó ninguna infección en el primer grupo de ratones (0/8), del segundo grupo se infectaron 3/8 ratones, al cuarto día tras el inóculo, y del tercer grupo se infectaron todos los ratones (8/8), al segundo día tras el inóculo. Los ratones del grupo 3 presentaron heces blandas, pérdida del 10% del peso corporal y disminución de la actividad, y los ratones del grupo 2 únicamente heces menos formes. En el estudio histopatológico del colon y ciego de los ratones del segundo grupo se observó inflamación irregular con hiperplasia de las glándulas colónicas, mientras que los ratones del tercer grupo (grupo de mayor inóculo) presentaron un infiltrado inflamatorio marcado de mucosa y submucosa del colon con presencia de células inflamatorias mixtas tales como eosinófilos, neutrófilos y linfocitos dentro de la lámina propia de la pared intestinal (103). Estas diferencias observadas podrían deberse al grado de inóculo del parásito en el intestino grueso, como así ha afirmado recientemente Jong *et al.* (104).

Otros muchos estudios han tratado de demostrar el potencial patogénico de *Dientamoeba fragilis*. Shein *et al.* (105) describieron en una biopsia de intestino de un

paciente infectado por *D. fragilis* la presencia de úlceras. Ockert *et al.* (106) demostraron cambios inflamatorios en la mucosa del recto y del colon sigmoide en pacientes infectados por *D. fragilis*, compatibles con proctitis crónica o hemorrágica.

Muchos autores han propuesto la relación entre *D. fragilis* y apendicitis con resultados contradictorios. Burrows *et al.* (107) describieron la presencia de *D. fragilis* en el tejido conectivo fibroso de la submucosa de 11 apéndices. Por el contrario, Cerva *et al.* (96) no encontraron relación entre la presencia de *D. fragilis* y el daño en la mucosa membranosa del apéndice.

Cuffari *et al.* (101) describieron un caso de colitis eosinofílica en una niña de 4 años con diarrea crónica, en cuya biopsia de colon descendente se objetivó un infiltrado eosinofílico. El estudio coproparasitario demostró la presencia de trofozoitos de *D. fragilis*. Tras recibir tratamiento la diarrea de la paciente remitió.

Varios estudios han relacionado la infección por *D. fragilis* y consiguiente inflamación intestinal, con la presencia de calprotectina en heces (104,108). La calprotectina es una proteína que se libera principalmente de neutrófilos, monocitos, macrófagos y células epiteliales submucosas, cuya presencia en heces es un marcador de inflamación intestinal. Aykur *et al.* (108) han demostrado recientemente la elevación de calprotectina fecal en pacientes infectados por *D. fragilis*, hallazgo que apoya la patogenicidad de dicho protozoo.

En conclusión, *D. fragilis* produce cambios inflamatorios a nivel de mucosa intestinal principalmente del colon, sobre todo cuando el inóculo es elevado (20,103,104,108). No obstante, es necesario el desarrollo de nuevos modelos animales para conocer mejor la patogenia de la infección por *D. fragilis*.

Sin embargo, algunos autores aún siguen poniendo en duda la patogenicidad de *D. fragilis*, como así demuestran varios estudios de casos y controles publicados recientemente (109–112), que no han encontrado diferencias en la incidencia infección por *D. fragilis* entre los individuos sintomáticos y sus controles, describiendo en alguno de ellos una incidencia incluso mayor entre los controles.

Uno de estos estudios, publicado en 2020 por Kurt *et al.* (112) y titulado “*Is Dientamoeba fragilis a Friend or a Foe?...*”, describe a este protozoo por un lado como un “amigo”, dado que ha sido aislado en muestras de individuos asintomáticos, y por otro como un “enemigo” por su potencial patogénico.

1.8 SINTOMATOLOGÍA CLÍNICA.

El papel de *D. fragilis* como causante de patología gastrointestinal es controvertido, aunque la evidencia científica disponible la relaciona con múltiples síntomas, entre los que destacan el dolor abdominal y la diarrea. A pesar de todo ello, aún existen dudas sobre su período de incubación, los mecanismos de transmisión, el porcentaje de pacientes asintomáticos y por tanto su verdadera prevalencia, y su relación con el síndrome del intestino irritable.

Múltiples estudios describen sintomatología clínica atribuible a la infección por *D. fragilis* (1–5,8,16,18,19,60,62,69,78,94,105,113–116) con una duración muy variable, desde días hasta dos años, entre los que se incluyen:

- Síntomas gastrointestinales. Son los síntomas descritos en la mayor parte de trabajos e incluyen: dolor abdominal de intensidad y duración variable (1–5,7,8,16,19,40,113,117–120), diarrea aguda o crónica, en ocasiones con presencia de leucocitos (5,7,8,19,69,89,94,95,100,105,113,117,121), y con menor frecuencia náuseas y vómitos (75,94,122). La presencia de diarrea se ha asociado con mayor frecuencia a infección aguda, y la presencia de dolor abdominal con la infección crónica (123). Otros síntomas descritos han sido la distensión o disconfort abdominal (95,97,104,114,120), la flatulencia (5,97,104,124,125) y el reflujo (126). *D. fragilis* también se ha relacionado con la aparición del síndrome de intestino irritable (28,86,99,127–131), de modo que algunos autores describen una mejoría clínica e incluso la desaparición de los síntomas tras su erradicación.

- Síntomas generales o constitucionales. Dentro de este grupo se incluyen: la fiebre (94,97,104,116), la astenia (4,62), la anorexia (4,62,104,116), la pérdida de peso (94,95,97), y la ausencia de ganancia ponderal en niños (126).
- Síntomas y/o alteraciones cutáneas, principalmente en forma prurito (5,119) y aparición de lesiones cutáneas compatibles con urticaria (132,133). Yang *et al.* (39) describieron en 1977, la relación entre *D. fragilis* y urticaria. Recientemente, Vezir *et al.* (133) relacionaron la urticaria crónica con infecciones causadas por algunos protozoos como *Blastocystis* spp. y *D. fragilis*, demostrando la mejoría de los pacientes tras su erradicación.
- Otros síntomas: Algunos autores han descrito de manera puntual otros síntomas como cefalea (126), cervicalgia (104), insomnio (97,104) o irritabilidad (123).

Talis *et al.* (134) han descrito la presencia de *D. fragilis* en 21 de 136 muestras bilis o vesículas biliares extirpadas quirúrgicamente, aunque no especifican los antecedentes ni la sintomatología que presentaban los pacientes.

Las infecciones graves por *D. fragilis* se han descrito ocasionalmente en forma de colitis o apendicitis (2,5,68,94,96,101,104–107,135). Schwarz *et al.* (135) describen el caso de una paciente con dolor abdominal inespecífico que consultó en urgencias por un cuadro clínico compatible con apendicitis, resultando todas las pruebas realizadas normales, salvo el estudio coproparasitario, que demostró la presencia de abundantes trozofitos de *D. fragilis*. El diagnóstico se demoró varios días puesto que no se sospechó que el cuadro clínico de la paciente pudiera deberse a una infección por *D. fragilis*. Los síntomas desaparecieron al tratar la infección.

La duración de los síntomas es muy variable, describiéndose formas crónicas en muchos de los trabajos publicados (2,85,94,117,122), de incluso años de duración.

D. fragilis e *Isospora belli* son los únicos protozoos que se han asociado con la presencia de eosinofilia periférica, especialmente en niños. Son múltiples los estudios que describen la presencia de eosinofilia en pacientes con diagnóstico de

infección por *D. fragilis* (2,71,97,101,104,114,123), con prevalencias que oscilan entre un 13,64% (2) y un 63,64% (101).

La mayoría de los estudios sugieren que hasta un 30% de los individuos infectados por *D. fragilis* pueden actuar como portadores asintomáticos (60,62,95,101,123,136). Jong *et al.* (104) realizaron un estudio de casos y controles en el que incluyeron 132 pacientes con dolor abdominal crónico y 77 controles. Identificaron *D. fragilis* en el 43,2% de los individuos sintomáticos y en un 50,6% de los asintomáticos ($p=0,255$), concluyendo que no existe relación entre el dolor abdominal crónico y la infección por *D. fragilis*.

1.9 DIAGNÓSTICO.

Desde la primera descripción de *D. fragilis* han sido varias las técnicas empleadas para su identificación y por tanto para su diagnóstico. Inicialmente la microscopía, ensayándose el uso de varias combinaciones entre líquido de fijación y tinción con el objeto de mejorar el rendimiento diagnóstico (1,5,136). Más tarde se estudió el cultivo, empleándose diferentes medios y diversas condiciones, demostrándose que se trataba de un método más sensible que el anterior (55,137). Otra técnica descrita ha sido la inmunofluorescencia indirecta, con gran especificidad, pero sin aplicación clínica (1,138).

La verdadera revolución en el diagnóstico de *Dientamoeba fragilis* ha sido la experimentada en los últimos años, gracias al desarrollo de nuevas técnicas basadas en la biología molecular, especialmente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que en la actualidad se ha posicionado como la prueba de elección o *gold standard*¹ para la mayor parte de los autores, por su elevada sensibilidad y especificidad (24,79,80,88,90,92,136,139,140).

¹*Gold standard*: Prueba diagnóstica de referencia; se trata del mejor test diagnóstico existente para el estudio de una enfermedad en términos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

1.9.1 Microscopía directa:

La morfología del trofozoíto de *D. fragilis* se altera rápidamente al separarse de su huésped, por tanto, se requieren heces frescas y una rápida fijación para su diagnóstico (1,10,132).

Para la microscopía se estudian 3 muestras de heces de 3 días consecutivos, a las que se aplican conservantes o productos fijadores tales como alcohol polivinílico (APV), acetato sódico-ácido acético formalina (SAF) o mertiolato-yodo formol (MIF) (1,5,16,19,132).

En las preparaciones húmedas, *D. fragilis* tiene un aspecto redondeado no específico que puede pasar desapercibido. Dado que los núcleos característicos de *D. fragilis* no se tiñen, la adición de solución salina o preparaciones con yodo no es suficiente para mejorar el rendimiento diagnóstico (1,5). Por esta razón, se han empleado una gran variedad de tinciones permanentes, siendo el tricrómico de *Wheatley* (141) y la hematoxilina férrica (5,10) los más utilizados. *Ragavan et al.* (142) compararon la tinción de *Field* modificada con la tinción de *Giemsa* y la hematoxilina férrica para diferenciar *D. fragilis* de *Blastocystis* spp. en muestras de pacientes cultivadas en medio de *Loeffler*. Descubrieron que el contraste era más evidente con la tinción de *Field* modificada que con las otras dos.

Múltiples autores han estudiado la combinación óptima entre el líquido de fijación y la técnica de tinción; para heces fijadas con alcohol polivinílico (APV), o su variante exenta de mercurio (Para-Pak[®] Zn-PVA), la tinción con tricrómico es más recomendable (1,5,40,95,119,123,141), mientras que para heces fijadas con SAF lo es la hematoxilina férrica (1,5,118). *Stark et al.* (1,118) consideraron que esta última (SAF y hematoxilina férrica modificada) es la mejor combinación para la fijación y la tinción.

1.9.2 Cultivo:

A diferencia de otros protozoos intestinales, *D. fragilis* solo crece en cultivos xénicos, es decir, en presencia de flora bacteriana (5). Es necesario lograr un equilibrio para controlar la flora intestinal presente en los cultivos y al mismo tiempo garantizar las necesidades alimentarias del protozoo para su desarrollo (143). Los medios cultivo suelen incluir almidón de arroz, que contiene los hidratos de carbono que *D. fragilis* necesita para su crecimiento (5), así como flora gramnegativa (29). Pueden añadirse antibióticos como vancomicina, penicilina, eritromicina o estreptomina para inhibir el crecimiento de bacterias grampositivas (29,54,144).

En la actualidad, aunque pueden emplearse medios de cultivo monofásicos, los más utilizados son los difásicos, y dentro de este grupo, el medio de Robinson (144), que contiene una fase sólida constituida por agar salino, y una fase líquida con *Escherichia coli*. Además, incluye otros aditivos como eritromicina o almidón de arroz.

A lo largo de la historia se han empleado múltiples medios de cultivo. Dobell (10) atribuyó a Thomson y Robertson el primer cultivo de *D. fragilis*, utilizando el medio Boeck y Drbohlav caracterizado por presentar suero de huevo. El medio empleado por estos autores estaba contaminado con *Blastocystis hominis*, por lo que no pudieron mantener el crecimiento de *D. fragilis* por mucho tiempo. Posteriormente, en 1929, Dobell y Svenson lograron cultivar *D. fragilis* en un medio bifásico no contaminado por otros protozoos (5,10). Más tarde, Cleveland *et al.* (145) emplearon el medio Loeffler (caracterizado por contener dextrosa, suero salino y una infusión de músculo cardíaco), aislando *D. fragilis*, mientras intentaban cultivar *Entamoeba histolytica*. Diamond *et al.* (146) desarrollaron un medio monofásico, el medio TYSGM-9 (tripticosa, extracto de levadura, suero, mucina gástrica), para el cultivo de diversos protozoos, entre los que se incluye *D. fragilis*.

Barratt *et al.* (147) compararon varios medios de cultivo: medio BD modificado, TYGM-9, Loeffler, medio de Robinson, medio 199, Trichosel y un medio de *Tritrichomonas fetus*, a diferentes temperaturas y condiciones atmosféricas. Concluyeron que el medio Loeffler soportaba un crecimiento significativamente superior a los demás, y que las condiciones óptimas para el desarrollo de *D. fragilis* incluían una temperatura de 42°C y una atmósfera microaerófila.

El cultivo es más sensible que la microscopía directa (55,137) para el diagnóstico de *D. fragilis*, si bien es cierto que no suele ser el método empleado de rutina en los laboratorios clínicos (19,143).

Windsor *et al.* (19) compararon el cultivo en el medio de Robinson con la tinción con tricrómico, y encontraron que *D. fragilis* aparecía solo en 9 de las 685 muestras teñidas con tricrómico frente a los 25 cultivos positivos confirmados por secuenciación. Stark *et al.* (139) estudiaron 650 muestras de heces humanas, y describieron una sensibilidad para el cultivo del 40% frente al 34,3% de la microscopía aislada.

1.9.3 Inmunoensayo.

La inmunofluorescencia indirecta (IFI) es un método diagnóstico con alta especificidad, que permite la detección de trofozoítos de *D. fragilis* en muestras fecales conservadas con SAF. El inconveniente de esta técnica diagnóstica es que no está disponible para su uso en los laboratorios clínicos, quedando restringida a los estudios de investigación (1,113,138).

Chan *et al.* (138) fueron los primeros en emplear la inmunofluorescencia indirecta para detectar *D. fragilis*. Analizaron un total de 155 muestras, 42 sin parásitos, 9 con *D. fragilis* y 104 con otros protozoos. Fueron capaces de identificar *D. fragilis* mediante IFI en siete de las nueve muestras positivas. Las dos muestras restantes mostraron resultados no concluyentes, que los autores atribuyeron al escaso número de trofozoitos presentes en las mismas.

1.9.4 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La PCR en tiempo real es considerada el método diagnóstico de elección por parte de la mayoría de autores (24,27,28,80,85,88,90,92,136,137,140,148).

Múltiples estudios han comparado la PCR en tiempo real basada en la detección de genes de RNA de la subunidad pequeña del ribosoma, con otros métodos diagnósticos, demostrando que la PCR presenta una sensibilidad y especificidad superior (85,136,139,140). Stark *et al.* (139) describen una sensibilidad y especificidad de la PCR cercana al 100%, frente al 40% y 100% respectivamente del cultivo y al 34,3% y 99% respectivamente de la microscopía convencional.

Desde hace unos años existen kits comerciales que permiten llevar a cabo una PCR múltiple, con el objeto de detectar simultáneamente varios protozoos tales como: *Blastocystis spp.*, *Cryptosporidium spp.*, *Cyclospora cayetanensis*, *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba complex*, *Giardia intestinalis o duodenalis...*, responsables de sintomatología clínica similar. La PCR múltiple presenta una sensibilidad que oscila entre el 92 y el 100% y una especificidad del 100% (92,149–151). Dirani *et al.* (150) demostraron en un estudio realizado recientemente en el que analizaron 632 muestras de heces, que el uso de la PCR múltiple mejora el rendimiento diagnóstico, tanto en infecciones aisladas (mejoría de un 275% respecto a las técnicas convencionales), como en coinfecciones por varios protozoos. Autier *et al.* (149) compararon la PCR múltiple con la microscopía, demostrando en el caso concreto de *D. fragilis* una sensibilidad diagnóstica de 97,2% frente a 14,1%, con resultados estadísticamente significativos ($p < 0,001$).

En definitiva, la PCR múltiple permite el diagnóstico simultáneo de varios agentes responsables de cuadros clínicos similares (diagnóstico sindrómico), resultando más costo-efectiva que la realización de cada uno de los estudios de forma aislada (149–151).

1.9.5. MALDI-TOF MS.

Técnica diagnóstica desarrollada en 1987 por el ingeniero japonés Koichi Tanaka (152) y basada en la espectrometría de masas. Sus siglas significan: MALDI: *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization* (desorción/ionización láser asistida por matriz), TOF: *Time-Of-Flight*, detector de iones que se acopla al MALDI, y MS: *Mass Spectrometry* (espectrometría de masas). Es una técnica rápida y de bajo costo, cuya aplicación en el diagnóstico de bacterias y hongos está ampliamente extendida, no así en el caso de los protozoos (152).

Calderaro *et al.* (153) en un estudio publicado en 2018 describen la creación, por primera vez hasta la fecha, de un perfil proteico de *D. fragilis* mediante MALDI-TOF MS con el fin de identificar marcadores específicos para la aplicación de esta tecnología en el diagnóstico de la dientamoebiasis. Demostraron que este método diagnóstico tiene una sensibilidad equiparable a la PCR, siendo más rápido, barato y fácil de usar. Este estudio supone un avance en el diagnóstico de *D. fragilis* y sienta las bases para un futuro desarrollo comercial que permita su aplicación en los laboratorios clínicos.

1.10 TRATAMIENTO.

Se han publicado numerosos estudios que evalúan las diferentes opciones de tratamiento para la infección por *D. fragilis* (2,57,97,101,115–117,122,124–126,154–157) (Tabla 3 y abla 3bis), pero a día de hoy no existe consenso acerca de cual es el fármaco de elección.

En la tabla 3 se muestran los diferentes estudios realizados hasta la fecha para analizar la eficacia de los diferentes tratamientos.

La tabla 4 muestra los diferentes fármacos empleados en el tratamiento de *D. fragilis*, junto con su fórmula química y su estructura molecular.

Tabla 3. Tabla comparativa de los fármacos empleados en los diferentes estudios para el tratamiento de la infección por *D. fragilis*.

Fármaco	Referencia	N	Dosis	Eficacia
1. AMINOGLUCÓSIDOS: Paromomicina	Cuffari <i>et al.</i> (1998) (101)	1	Desconocido	100%
	Vandenberg <i>et al.</i> (2006) (116)	4	25–35 mg/kg/día, 7 días	100%
	Vandenberg <i>et al.</i> (2007) (122)	15	25–35 mg/kg/día, 7 días	80%
	Stark <i>et al.</i> (2010) (2)	5	8–12 mg/kg día, de 7 a 10 días	100%
	Hellemond <i>et al.</i> (2012) (154)	61	3 dosis diarias de 500 mg, de 7 a 10 días	98%
	Jong <i>et al.</i> (2014) (104)	39	Desconocido	59%
	Burgaña <i>et al.</i> (2019) (57)	119	25-35 mg/kg/día en 3 dosis, 7 d	81,8%
2. 8-OH-QUINOLEINAS: 2A. Yodoquinol	Preiss <i>et al.</i> (1991) (115)	5	20 mg/kg/día, 10 días	20%
	Cuffari <i>et al.</i> (1998) (101)	5	40 mg/kg/día, 20 días	80%
	Stark <i>et al.</i> (2010) (2)	3	650 mg diarios, de 10 a 12 días	100%
2B. Clioquinol	Bosman <i>et al.</i> (2004) (125)	27	40 mg/kg/día de 10 a 21 días	81,48%
	Hellemond <i>et al.</i> (2012) (154)	12	3 dosis diarias de 250 mg, 7 días	83%
	Schure <i>et al.</i> (2013) (97)	112	15 mg/kg/día en 3 dosis diarias, de 5 a 10 días	74,4%
	Jong <i>et al.</i> (2014) (104)	8	Desconocido	75%
3. MACRÓLIDOS: Eritromicina	Preiss <i>et al.</i> (1991) (115)	6	50 mg/kg/día durante 10 días	50%
4. NITROIMIDAZOLES: 4A. Metronidazol	Preiss <i>et al.</i> (1991) (115)	91	30 mg/kg/día, 10 días	70%
	Cuffari <i>et al.</i> (1998) (101)	6	Desconocido	83,33%
	Bosman <i>et al.</i> (2004) (125)	16	Desconocido	68,75%
	Vandenberg <i>et al.</i> (2006) (116)	12	500–750 mg/ 8 horas, 10 días	66,70%
	Kurt <i>et al.</i> (2008) (155)	56	1.5 g/ día, en 3 dosis, 5 días 20 mg/kg/ día en niños	69,60%
	Stark <i>et al.</i> (2010) (2)	28	400–750 mg, cada 8 horas o una vez al día, de 3 a 10 días	80%
	Banik <i>et al.</i> (2011) (117)	41	Desconocido	85%
	Engsbro <i>et al.</i> (2012) (128)	27	-2 g una vez al día, 3 días -500 mg 3 veces al día, 10 días -50 mg 3 veces al día, 10 días	60%
	Hellemond <i>et al.</i> (2012) (154)	7	3 dosis/día de 500 mg, 7–10 d	57%
	Schure <i>et al.</i> (2013) (97)	39	30 mg/kg/día en 3 dosis, de 3 a 10 días	52,4%
Röser <i>et al.</i> (2014) (126)	48	40 mg/kg/día, 3 dosis/d, 10 d	68,2%	
Burgaña <i>et al.</i> (2019) (57)	483	-500-750 mg 3 veces/d, 10 d - 30 mg/kg/ día en niños, 10 d	65,4%	

Tabla 3bis. Tabla comparativa de los fármacos empleados en los diferentes estudios para el tratamiento de la infección por *D. fragilis*.

Fármaco	Referencia	N	Dosis	Eficacia
4B. Secnidazol	Girginkardesler <i>et al.</i> (2003) (62)	34	30 mg/kg en niños; 2 g en adultos, ambas en dosis única	97%
4C. Ornidazol	Kurt <i>et al.</i> (2008) (155)	56	Dosis única oral: 30 mg/kg en niños y 2 g en adultos	92,9%
5. TETRACICLINAS 5A. Tetraciclina	Dardick (1983) (156)	1	4 dosis diarias de 500 mg, 10 d	100%
	Butler (1996) (124)	1	100 mg dos veces al día, 10 días	100%
	Preiss <i>et al.</i> (1991) (115)	9	30-40 mg/kg/día 2 veces al día de 7 a 30 días	90%
5B. Oxitetraciclina	Preiss <i>et al.</i> (1991) (115)	8	30-40 mg/kg/día, 7-30 días	90%
5C. Doxiciclina	Preiss <i>et al.</i> (1991) (115)	4	2 mg/kg/día, 10 días	75%

1.10.1 Aminoglucósidos.

Este grupo de antibióticos actúa inhibiendo la síntesis de proteínas mediante su unión a la subunidad 30S del ribosoma impidiendo el acceso de los aminoacil-ARNt (158). Dentro de los aminoglucósidos el único empleado en el tratamiento de la infección por *D. fragilis* es el sulfato de **paromomicina** (Tabla 4) cuya gran ventaja es que apenas se absorbe al administrarlo por vía oral, alcanzando concentraciones elevadas en el intestino. En España está comercializado por el grupo farmacéutico *Pfizer* bajo el nombre de Humatin®.

En el tratamiento de la infección por *D. fragilis*, la paromomicina, ha demostrado tasas de curación cercanas al 100% (2,57,101,116,122,154), aunque en comparación con otros fármacos, como el metronidazol, existen muchos menos estudios que evalúen su eficacia, y los existentes incluyen un menor número de pacientes.

Vandenberg *et al.* (122) analizaron el tratamiento con paromomicina en un grupo de 15 niños, demostrando una tasa de erradicación parasitológica del 80% y una efectividad clínica del 87%. Tras la primera semana se observó fracaso

parasitológico en un paciente que pesaba 13 kg, y que se atribuyó a una infradosificación. Pasadas 2 semanas *D. fragilis* fue detectada en otros 2 pacientes, postulándose en esta ocasión que el fracaso terapéutico podría estar en relación con una posible reinfección. Hellemond *et al.* (154) realizaron un estudio comparativo de varios tratamientos, en el que 61 pacientes fueron tratados con paromomicina, demostrándose una tasa de curación del 98%.

Un estudio reciente realizado en España por Burgaña *et al.* (57) demostró que la paromomicina presenta tasas de curación superiores al resto de tratamientos (81,8%), con resultados estadísticamente significativos, salvo en niños menores de 6 años.

La dosis recomendada para el tratamiento con paromomicina es de 25-35 mg/kg/día, y su administración es por vía oral dividida en 3 tomas, durante un total de 5 a 10 días. Los efectos secundarios son infrecuentes, debido a la escasa absorción sistémica del fármaco, e incluyen toxicidad vestibular, coclear y renal (159).

1.10.2 8-Hidroxiquinoleínas.

Son productos sintéticos halogenados que se administran por vía oral, actúan de forma local en la luz intestinal y tienen escasa absorción sistémica. Su mecanismo de acción es desconocido, aunque se ha sugerido que actúan quelando el hierro que los parásitos intestinales necesitan para su metabolismo (160). Entre sus efectos adversos más frecuentes destacan los síntomas gastrointestinales, y más grave, aunque infrecuente, la neurotoxicidad (neuropatía con especial afectación del nervio óptico, mielopatía y encefalopatía) en casos de administración prolongada (161). Dentro de este grupo los fármacos más utilizados son: Yodoquinol (Diyodohidroxiquinoleína) (Tabla 4) y Clioquinol (Yodoclorohidroxiquinoleína) (Tabla 4), el primero de ellos contiene 2 moléculas de yodo y el segundo una de cloro y otra de yodo.

El **Yodoquinol** se ha usado en el tratamiento de la infección por *D. fragilis* sobre todo en Estados Unidos. Se administra por vía oral a una dosis de 650 mg tres veces al día durante 20 días en adultos, y 40 mg/kg/día en tres dosis (máximo 2 g) durante 20 días en niños. Las tasas de curación oscilan entre el 20 y el 100%, si bien todos los estudios realizados con este fármaco incluyen un número pequeño de pacientes (2,101,115). Cuffari *et al.* (101) usaron Yodoquinol para tratar a 5 pacientes, logrando la curación en 4 de ellos. Sin embargo, Preiss *et al.* (115) usaron este fármaco en 5 pacientes, documentando la curación en sólo 1 de ellos, sin bien es cierto que emplearon dosis inferiores y durante menos tiempo que los anteriores. Stark *et al.* (2) describieron una curación del 100% en 3 pacientes tratados con Yodoquinol.

El **Clioquinol** es similar al Yodoquinol, aunque con tasas de curación algo superiores (97,125,154). Bosman *et al.* (125) demostraron una tasa de erradicación del 81,48%, Hellemond *et al.* (154) del 83% y Schure *et al.* (97) del 74,4%. El último de ellos, que obtuvo una menor tasa de curación, empleó una dosis menor y una pauta más corta de tratamiento que los demás.

Recientemente se ha cuestionado el uso Clioquinol por la frecuencia de efectos adversos observados. Actualmente este fármaco únicamente está disponible en nuestro país para uso tópico, ya que fue retirado del mercado por la farmacéutica que lo comercializaba para su uso sistémico en 1985, debido a la gravedad de sus efectos adversos, incluso a dosis terapéuticas. Pese a ello, a día de hoy en algunos países se administra como un preparado de farmacia, de modo que en los últimos años se está observado una frecuencia creciente de reacciones adversas debidas a su uso sistémico, especialmente en forma de neurotoxicidad (162).

1.10.3. Macrólidos.

Los antibióticos pertenecientes a la familia de los macrólidos se unen a la subunidad 50S del ribosoma impidiendo la elongación de las cadenas

polipeptídicas (163). Dentro de este grupo de fármacos el único que se ha empleado para el tratamiento de la dientamoebiasis ha sido la **eritromicina** (Tabla 4) (115). Los efectos secundarios más frecuentes de los macrólidos son los gastrointestinales, así como las alteraciones cutáneas. Más raramente puede producirse: ototoxicidad, hepatotoxicidad, arritmias cardíacas o síndrome de Stevens-Johnson (164).

El único estudio en el que se ha utilizado eritromicina para el tratamiento de la infección por *D. fragilis* ha sido publicado por Preiss *et al.* (115), demostrando una eficacia del 50% en 6 pacientes tratados con dicho fármaco.

10.2.4 Nitroimidazoles.

Grupo de fármacos antibacterianos y antiparasitarios que actúan por medio de la reducción del grupo nitro para formar metabolitos intermedios, inestables y tóxicos, que son capaces de inhibir la síntesis de ADN por un lado, y producir un daño en el ADN bacteriano por oxidación por otro, ocasionando en último término la muerte celular (165,166). Tienen una buena absorción por vía oral, se metabolizan en el hígado y se excretan a través de la orina (166). Dentro de este grupo el fármaco más utilizado es el metronidazol, aunque recientemente se han publicado trabajos en los que se han usado otros nitroimidazoles como el secnidazol y el ornidazol.

El **metronidazol** (Tabla 4) es uno de los fármacos más usado a nivel mundial en el tratamiento de la infección por *D. fragilis*.

El primero en emplearlo fue Preiss *et al.* (115) en una cohorte de 91 niños, logrando una eficacia del 70%. De los pacientes restantes 21 fueron curados con un segundo ciclo de tratamiento con metronidazol y 10 precisaron un tercer ciclo. Posteriormente, Stark *et al.* (2) demostraron una tasa de erradicación de 80%. En este estudio *D. fragilis* fue detectada en el 21,4% de los pacientes de 2 a 4 semanas después de haber finalizado el tratamiento. Banik *et al.* (117) describieron una eficacia del 85% en un grupo de 41 niños.

Röser *et al.* (126) llevaron a cabo el primer ensayo clínico comparando el tratamiento con metronidazol respecto a placebo. Demostraron una tasa de curación del 62,5%, 2 semanas después haber finalizado el tratamiento con Metronidazol y sólo un 24,9% a las 8 semanas.

Engsbro *et al.* (128) compararon el tratamiento con metronidazol a diferentes dosis, proponiendo una pauta inicial de 500 mg, 3 veces al día durante 10 días, y en caso de fracaso un nuevo ciclo de tratamiento con metronidazol, pero a mayor dosis. Al final del estudio concluyen que una de las causas del fracaso terapéutico con metronidazol podría ser una dosis inadecuada.

La dosis recomendada para el tratamiento de la infección por *D. fragilis* con metronidazol es: 500-750 mg tres veces al día durante 10 días para adultos, y 35-50 mg/kg/día tres veces al día durante 10 días en los niños. Es un fármaco costo-efectivo y seguro, cuyos efectos adversos se consideran de gravedad leve a moderada, e incluyen anorexia, sabor metálico, cefalea, insomnio, diarrea y vómitos. En tratamientos prolongados puede producir crisis convulsivas y neuropatía periférica, ambos infrecuentes (157,166,167). Por otro lado, el metronidazol inhibe el metabolismo del alcohol en algunos pacientes, aumentando el riesgo de intolerancia (166).

Secnidazol (Tabla 4) y **ornidazol** (Tabla 4) son los derivados de los 5-nitroimidazoles más modernos. Su principal característica es que tienen una vida media más larga que el metronidazol, por lo que se administran una única vez al día, disminuyendo así la incidencia de efectos adversos (167).

Girginkardesler *et al.* (62) estudiaron el tratamiento con secnidazol en 35 pacientes con *D. fragilis*, lográndose la curación en 34 de ellos (97%).

Kurt *et al.* (155) llevaron a cabo un estudio comparando el tratamiento con ornidazol frente a metronidazol en 112 pacientes que fueron aleatorizados en 2 grupos. El primer grupo recibió tratamiento con ornidazol en una dosis única diaria y el segundo grupo recibió tratamiento con metronidazol 3 veces al día, ambos por

vía oral. En este estudio se logró la curación parasitológica en 52 de los 56 pacientes tratados con ornidazol (92,9%), frente a 39 de los pacientes tratados con metronidazol (69,6%). Los 4 pacientes que fracasaron al tratamiento con ornidazol, se trataron nuevamente con este fármaco, consiguiendo finalmente su curación. Del segundo grupo únicamente 8 de 17 pacientes se curaron con un segundo ciclo de tratamiento con metronidazol, de modo que los 9 pacientes restantes se trataron con ornidazol lográndose la erradicación de la infección.

1.10.5 Nitrotiazoles.

Dentro de este grupo de fármacos, el único empleado para el tratamiento de la dientamoebiasis es la nitazoxanida (Tabla 4).

La **nitazoxanida** es un fármaco de amplio espectro frente a bacterias, protozoos, helmintos, y virus (168), entre los que se ha incluido recientemente el virus SARS-CoV-2 (169). Actúa inhibiendo la transferencia de electrones dependiente de la piruvato-ferredoxin-oxidoreductasa (PFOR), enzima esencial para el metabolismo anaerobio (168,170). Se administra por vía oral y en la pared intestinal, por acción de las esterasas, se convierte en su metabolito activo, la tiazoxanida. Se excreta por orina, bilis y heces. Sus efectos adversos suelen ser leves y transitorios e incluyen dolor abdominal, diarrea y náuseas. Con menor frecuencia puede producirse: anorexia, edema de glándulas salivales, temblor, mareo, cefalea, somnolencia, tinción amarillenta de la esclerótica y coloración verdosa de la orina (168,170).

La experiencia de tratamiento con este fármaco se reduce a un único caso (43) de un paciente que fue tratado con éxito con una combinación de nitazoxanida, doxiciclina y secnidazol, sin especificarse la dosis.

1.10.6 Tetraciclinas.

Dentro de este grupo de fármacos se han empleado para el tratamiento de la dientamoebiasis: tetraciclina (Tabla 4), doxiciclina (Tabla 4) y oxitetraciclina (Tabla 4). Actúan inhibiendo la síntesis proteica mediante su unión a la subunidad 30S del ribosoma. Sus efectos adversos más frecuentes son los gastrointestinales, la fotosensibilidad, las alteraciones del esmalte dental y la toxicidad hematológica. Se desaconseja su uso en niños ya que pueden ser causa de alteraciones en el desarrollo esquelético (156).

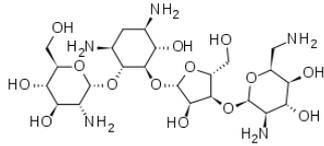
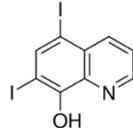
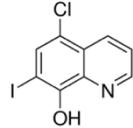
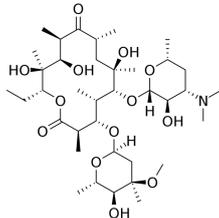
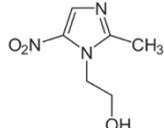
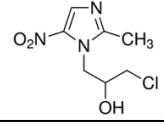
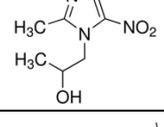
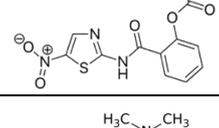
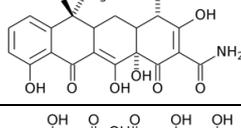
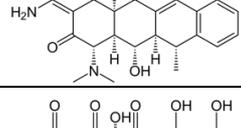
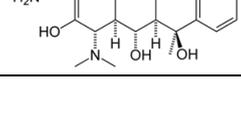
Dardick (156) fue el primero en recomendar el uso de tetraciclina, describiendo el caso de un paciente con diarrea secundaria a infección por *D. fragilis*, que fue tratado con éxito tras fracasar a dos ciclos de tratamiento con metronidazol. Posteriormente Butler (124) y Preiss *et al.* (115) usaron tetraciclina en 1 y 9 pacientes respectivamente con tasas de curación del 100% y del 90%.

Preiss *et al.* (115) emplearon oxitetraciclina en 8 niños y doxiciclina en 4 niños con infecciones conocidas por *D. fragilis*, logrando unas tasas de curación de 90% y 75% respectivamente.

1.10.7 Otros tratamientos.

Recientemente Kingston-Smith *et al.* (171) han propuesto la administración de una combinación de tres fármacos: furazolidona, secnidazol y nitazoxanida por medio de una colonoscopia, en pacientes que han fracasado a tratamientos previos, logrando una tasa de erradicación del 100%. Roshan *et al.* (172) realizaron un estudio basado en la administración de enemas (vía rectal) compuestos por la misma combinación de fármacos que el trabajo anterior, durante dos días consecutivos, para el tratamiento de *D. fragilis* y *B. hominis*. Describieron una mejoría significativa de los síntomas tras finalizar el tratamiento, así como una tasa de erradicación seis semanas después de finalizado el tratamiento del 79%.

Tabla 4. Fórmula química y estructura molecular de los diferentes fármacos empleados a lo largo de la historia para el tratamiento de la infección por *D. fragilis*.

Fármaco (familia/antibiótico)		Fórmula química	Estructura molecular
1. Aminoglucósidos	Paromomicina	$C_{23}H_{47}N_5O_{18}S \cdot H_2SO_4$	
	Yodoquinol	$C_5H_5I_2NO$	
2. 8-Hidroxiquinoleínas	Clioquinol	C_9H_9ClINO	
	Eritromicina	$C_{37}H_{67}NO_{13}$	
4. Nitroimidazoles	Metronidazol	$C_6H_9N_3O_3$	
	Ornidazol	$C_7H_{10}ClN_3O$	
	Secnidazol	$C_7H_{11}N_3O_3$	
5. Nitrothiazoles	Nitazoxanida	$C_{12}H_9N_3O_5S$	
6. Tetraciclinas	Tetraciclina	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	
	Doxiciclina	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	
	Oxitetraciclina	$C_{22}H_{24}N_2O_9$	

1.10.8 Recomendaciones actuales de tratamiento.

Actualmente los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades estadounidenses (CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*) recomiendan para el tratamiento de la infección por *D. fragilis* únicamente 3 fármacos: yodoquinol, paromomicina y metronidazol según las posologías indicadas en la tabla 5.

Tabla 5. Fármacos y posologías recomendados por los CDC para el tratamiento de la infección por *D. fragilis*.

<i>Fármaco</i>	<i>Posología (en adultos)</i>
Yodoquinol	650 mg por vía oral, 3 veces al día, durante 20 días
Paromomicina	25-35 mg/kg al día dividido en 3 dosis, por vía oral, durante 7 días
Metronidazol	500-750 mg vía oral, 3 veces al día, durante 10 días

Como puntualización a estas recomendaciones desde los CDC advierten que secnidazol y ornidazol son alternativas terapéuticas adecuadas, pero no se encuentran comercializadas en Estados Unidos.

1.11. SEGUIMIENTO.

Existe poca evidencia en la literatura a cerca del seguimiento de los pacientes con infección por *D. fragilis* una vez completado el tratamiento. Algunos autores sostienen que es razonable realizar un estudio coproparasitario a las 3-4 semanas tras finalizar el tratamiento, especialmente si persisten los síntomas (113,173). Se debe esperar este periodo de tiempo, y no realizar los estudios inmediatamente después de completar el tratamiento, sobre todo en aquellos casos en los que se emplee como método diagnóstico la PCR, ya que se requiere un “periodo de

lavado" (113). De lo contrario se podrían obtener falsos positivos al detectar esta prueba restos de material genético de protozoos no viables. En los casos en los que persista la infección se debe indicar un segundo ciclo de tratamiento antibiótico, siempre teniendo en cuenta las posibles reinfecciones (113).

1.12 PREVENCIÓN.

No existen recomendaciones específicas acerca de la prevención de la infección por *D. fragilis*, dado que el mecanismo de transmisión no está claramente definido. La mayoría de autores recomiendan medidas básicas, principalmente el lavado frecuente de manos y la higiene al manipular alimentos (16).

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

A pesar de haber emergido como un patógeno de distribución mundial (1–5,8,16,19,62,174,175), *Dientamoeba fragilis* es un protozoo con importantes cuestiones aun sin responder. Por un lado, no están claros sus mecanismos de transmisión, ni el papel que *Enterobius vermicularis* juega en la misma o en su patogenicidad. Por otra parte, tanto sus factores de riesgo, como sus características clínicas y su tratamiento de elección continúan sin estar claramente establecidos, convirtiéndola, como decían sus descubridores (9), posiblemente, en uno de los protozoos más interesantes y misteriosos.

Pese a ser un protozoo cada vez más prevalente, en algunas series solo superado por *Blastocystis* spp., una búsqueda en la Base de Datos indexada *Pubmed* arroja tan solo unos 330 resultados en total, la mayoría de los cuales correspondientes a estudios publicados en los últimos 15 años. En España ha sido descrita en contadas ocasiones, muchas de ellas por nuestro grupo de trabajo (6,8,35,41).

Todas estas razones hacen que *Dientamoeba fragilis* sea un patógeno de interés creciente, lo que nos ha llevado a plantearnos los siguientes objetivos:

2.1. OBJETIVO PRINCIPAL:

- Describir las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de infección por *Dientamoeba fragilis* en nuestro medio.

2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS:

- Estudiar la prevalencia de la infección por *Dientamoeba fragilis* en los contactos domiciliarios o convivientes de los pacientes inicialmente diagnosticados, así como su papel en el fracaso terapéutico y en la aparición de recidivas, y, por consiguiente, en la persistencia de la infección.

- Comparar la eficacia clínica de los dos tratamientos médicos empleados en la actualidad en nuestro país: metronidazol y paromomicina, y estudiar las variables ligadas al fracaso terapéutico.
- Analizar el papel de la coinfección por *Enterobius vermicularis* en la persistencia de la infección por *D. fragilis* y/o en el fracaso terapéutico.
- Evaluar la patogenicidad de *D. fragilis*, así como los factores de riesgo para la infección, y sus características clínicas, mediante un estudio de casos y controles no infectados.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES.

Se diseñó un estudio descriptivo, retrospectivo en el que se incluyeron todos los pacientes diagnosticados de infección por *Dientamoeba fragilis* en la consulta de Medicina Tropical del Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA) entre enero de 2012 y diciembre de 2017, ambos incluidos, con el fin de analizar las características de la infección por este protozoo. Para ello, se revisaron las historias clínicas de dichos pacientes, recogiendo los datos demográficos, epidemiológicos, clínicos, analíticos, diagnósticos y terapéuticos que se plasmaban en las mismas, de forma protocolizada, para su posterior procesamiento informático y estadístico.

La consulta de Medicina Tropical del Hospital Universitario Central de Asturias se encargó, entre abril del 2007 y diciembre del 2017, del diagnóstico y tratamiento de las enfermedades relacionadas con los viajes, la patología importada en relación con los fenómenos migratorios, y todo tipo de parasitosis, de forma directa a los pacientes del área sanitaria IV, y como referencia al resto de áreas del Sistema de Salud del Principado de Asturias. En este tiempo, se atendieron 1855 primeras consultas, tanto en población inmigrante, como en viajeros o pacientes con diversas parasitosis autóctonas (Figura 7).

Los pacientes fueron derivados a la consulta a través del médico de Atención Primaria, de otros servicios médicos (Digestivo, Alergia, Dermatología, Medicina Interna, Pediatría...), de servicios quirúrgicos (Cirugía general, Cirugía plástica...) o bien a través del Programa de Cribado del Inmigrante establecido entre la consulta de Medicina Tropical y dos ONGs: la Asamblea Local de Gijón de Cruz Roja Española, y la Asociación de Apoyo al Inmigrante en Asturias (APIA).

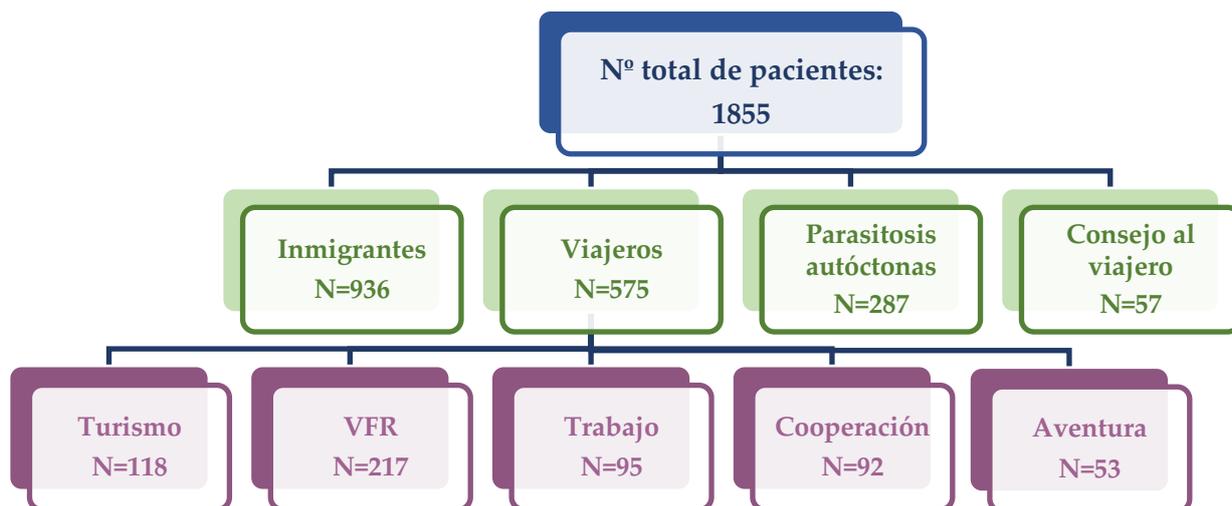


Figura 7. Población atendida en la Consulta de Medicina Tropical del Hospital Universitario central de Asturias entre 2007 y 2017.

3.2 DISEÑO DEL ESTUDIO.

3.2.1 Definición de caso y población diana.

Para los propósitos del estudio se consideró como *caso* a toda aquella persona que presentaba *Dientamoeba fragilis* en heces diagnosticada según el protocolo diagnóstico del apartado 3.4. Como ya se ha indicado, la selección de la población diana se restringió a los pacientes atendidos en la consulta de Medicina Tropical del Hospital Universitario Central de Asturias, entre enero de 2012 y diciembre de 2017.

3.2.2 Criterios de inclusión y exclusión generales:

Se consideraron los siguientes *criterios de inclusión generales*:

- Haber sido diagnosticado de infección por *D. fragilis*, mediante el protocolo diagnóstico descrito en el apartado 3.4.

- b) Haber sido valorado en la consulta de Medicina Tropical, y haber concluido el protocolo diagnóstico establecido, durante el periodo de estudio.

Se consideraron *criterios de exclusión generales*:

- a) Pacientes que habiendo sido vistos en la consulta de Medicina Tropical y diagnosticados de infección por *D. fragilis*, no completaron el protocolo diagnóstico, bien porque no acudieron a las consultas sucesivas de revisión, o bien porque no aportaron las muestras correspondientes, según se describe en el protocolo diagnóstico del apartado 3.4.

3.2.3 Diseño de los subestudios.

Para poder cumplir con los objetivos del trabajo se diseñaron tres subestudios:

- 1) Estudio de prevalencia de *D. fragilis* en los contactos domiciliarios de los casos inicialmente diagnosticados, y descripción de las características diferenciales existentes entre aquellos contactos infectados y no infectados.
- 2) Estudio comparativo de la eficacia de los tratamientos realizados, e identificación de los posibles factores ligados al fracaso terapéutico.
- 3) Estudio comparativo de casos frente a controles sanos, con el fin de analizar más adecuadamente los factores de riesgo y el papel patógeno de *Dientamoeba fragilis*.

A continuación, se describen los criterios de inclusión y exclusión específicos de cada uno de los tres subestudios, que han de sumarse a los criterios de inclusión y exclusión generales anteriormente descritos.

3.2.3.1 Subestudio 1: "Prevalencia de *D. fragilis* en contactos domiciliarios de pacientes infectados por *D. fragilis*. Descripción de las características diferenciales existentes entre contactos infectados y no infectados".

Para el subestudio 1 se consideró como caso inicial, aquel que se diagnosticó en primer lugar en la consulta. A todos los pacientes se les interrogó acerca de sus contactos familiares, a los cuales se les propuso realizar el mismo protocolo diagnóstico (apartado 3.4).

Para este subestudio se consideraron los siguientes *criterios de inclusión*:

- Ser conviviente o contacto domiciliario de un caso de infección por *D. fragilis* diagnosticado previamente.
- Haber concluido el protocolo diagnóstico establecido, durante el periodo de estudio.

Se consideraron *criterios de exclusión*:

- No haber concluido el protocolo diagnóstico establecido, durante el periodo de estudio.
- Negativa a participar en el estudio.
- Haber recibido tratamiento antiparasitario por cualquier razón en los 30 días previos al estudio (con el fin de evitar sesgos).
- Se excluyeron aquellos casos iniciales positivos, que no tenían contactos domiciliarios o en los que no fue posible realizar el estudio de éstos.

3.2.3.2 Subestudio 2. Estudio comparativo de la eficacia de los tratamientos realizados e identificación de los posibles factores ligados al fracaso terapéutico.

En este caso se consideraron los siguientes *criterios de inclusión*:

- Haber sido diagnosticado de infección por *D. fragilis* según el protocolo del apartado 3.4, y haber realizado tratamiento para la misma según los protocolos de tratamiento descritos en el punto 3.5.

- Haber completado el protocolo de seguimiento post-tratamiento descrito en el apartado 3.6 durante el periodo de estudio.

Se consideraron **criterios de exclusión:**

- No haber concluido el protocolo diagnóstico establecido, durante el periodo de estudio.
- Negativa a recibir tratamiento.
- No haber completado el protocolo de seguimiento post-tratamiento durante el periodo de estudio.

3.2.3.3 Subestudio 3. Estudio comparativo de casos y controles sanos, con el fin de analizar más adecuadamente los factores de riesgo y el papel patógeno de *Dientamoeba fragilis*.

Para el subestudio 3, se consideraron *criterios de inclusión:*

- Se seleccionaron como casos los pacientes que habían sido diagnosticados de infección por *D. fragilis* según el protocolo diagnóstico de todo el trabajo (apartado 3.4).
- Se seleccionaron como controles a pacientes con el mismo sexo, edad (± 5 años), y lugar de procedencia que los casos. Los controles se seleccionaron entre los pacientes atendidos en la consulta de Medicina Tropical del HUCA en los que no se demostró presencia de patología a ningún nivel.
- En ambos casos era necesario haber completado el protocolo diagnóstico descrito en el apartado 3.4 durante el periodo de estudio.

Se consideraron *criterios de exclusión:*

- No haber concluido el protocolo diagnóstico establecido, durante el periodo de estudio.
- Los controles fueron excluidos, con el fin de evitar sesgos, si presentaban:

- a) antecedentes personales de enfermedad,
- b) presencia de alteraciones en la exploración física,
- c) alteraciones analíticas de cualquier tipo,
- d) presencia de parasitosis intestinal de cualquier tipo en el estudio realizado.

Estos criterios de exclusión se establecieron con el objetivo de seleccionar como controles a población sana.

3.2.4 Elección de la muestra.

Se establecieron diferentes técnicas de selección de sujetos, dependiendo de los objetivos concretos. Inicialmente se identificaron 105 pacientes con infección por *D. fragilis* (casos índice) que cumplían los criterios de inclusión. No se excluyó ningún paciente en esta fase inicial del estudio.

Con respecto al **subestudio 1**, "Prevalencia de *D. fragilis* en contactos domiciliarios de pacientes infectados por *D. fragilis*. Descripción de las características diferenciales existentes entre contactos infectados y no infectados", únicamente en 65 de los 105 casos índice fue posible estudiar a los contactos domiciliarios, por lo que para este subestudio 40 casos positivos fueron excluidos. De esta forma quedaron incluidos en esta parte del trabajo **65 casos índice** y sus **120 contactos** domiciliarios que cumplían los criterios de inclusión. Ningún contacto fue excluido por no haber completado el protocolo diagnóstico en el momento de finalización del mismo.

En el caso del **subestudio 2** ("Estudio comparativo de la eficacia de los tratamientos realizados e identificación de los posibles factores ligados al fracaso terapéutico") se incluyeron todos los casos positivos que habían recibido tratamiento, tanto los casos índice que completaron el protocolo de tratamiento, como los contactos estudiados que resultaron positivos y completaron el mismo

protocolo. En total los pacientes incluidos en este subestudio fueron **154**. De ellos, **85** fueron tratados inicialmente con **metronidazol** y el resto, **69** pacientes, con **paromomicina**. Al tratarse de un estudio retrospectivo, no se pudo realizar ninguna aleatorización a la hora de instaurar los tratamientos.

Con respecto al **subestudio 3** “Estudio comparativo de casos y controles sanos, con el fin de analizar más adecuadamente los factores de riesgo y el papel patógeno de *D. fragilis*” se seleccionaron del total de pacientes diagnosticados inicialmente, aquellos a los que fue posible asignarle un control que cumpliera los requisitos de emparejamiento. De esta forma quedaron seleccionados **91 casos** diagnosticados de infección por *Dientamoeba fragilis*, y **91 controles sanos**.

3.3. PROTOCOLO DE RECOGIDA DE DATOS.

Tanto a los casos índice, como a sus contactos, y a los controles incluidos en el estudio, se les aplicó un protocolo de recogida de datos (Anexo 1) diseñado para su procesamiento informático y estadístico, en el que se incluyeron variables demográficas, clínicas, analíticas, diagnósticas y terapéuticas.

3.3.1 Datos demográficos:

Dentro de los datos de filiación se incluyeron los siguientes: edad, sexo, país de procedencia, tiempo de permanencia en España (en el caso de los inmigrantes), antecedente de viaje y tiempo transcurrido desde el mismo hasta la consulta. En relación con la edad, se tomó en cuenta la del paciente en el momento del diagnóstico.

Los pacientes se dividieron en 3 grupos en función de su lugar de procedencia:

1. **Autóctonos:** aquellos pacientes originarios y residentes en nuestro país (España).

2. **Inmigrantes:** Aquellos pacientes que actualmente residen en España, pero que proceden de otros países, independientemente de su situación legal.
3. **Viajeros:** Aquellos pacientes procedentes de España que habían viajado a otros países por diferentes motivos: trabajo, ocio, cooperación, etc. en los 12 meses previos a la consulta. Dentro de este grupo existe un subgrupo, los *VFR* (*Visiting Friends and Relatives*), que son inmigrantes que residiendo habitualmente en España viajan a su país de origen de forma temporal para visitar a amigos o familiares. En este caso también se tuvo en cuenta si el antecedente de viaje se encontraba dentro de los 12 meses previos a la consulta.

En los pacientes inmigrantes, el tiempo de permanencia en España se definió como el tiempo transcurrido entre la llegada del paciente a España y el momento de acudir por primera vez a la consulta, y se expresó en días.

3.3.2. Motivo de consulta:

Se consideró como motivo de consulta al referido por el médico encargado de la derivación del paciente (urgencias, atención primaria, otros servicios médicos y quirúrgicos). En caso de no disponer del mismo, se consideró como tal el señalado por el paciente cuando fue atendido en consulta por primera vez.

3.3.3. Datos epidemiológicos:

Dentro de este apartado se recogieron los siguientes datos: presencia de niños en el núcleo familiar (de edad menor o igual a 14 años), residencia en zona rural y contacto con animales.

3.3.4. Anamnesis y exploración física:

En la anamnesis se hizo hincapié en el estudio de los siguientes síntomas que se agruparon en síndromes:

- **Síndrome gastrointestinal.** Cualquiera de los siguientes síntomas:
 - Diarrea: Aumento en la frecuencia normal de las deposiciones (3 ó más al día) y/o disminución de su consistencia, ya sea de forma continua o intermitente.
 - Dolor abdominal: cualquier algia situada en la cavidad abdominal independientemente de su duración, intensidad y localización.
 - Distensión abdominal: sensación de plenitud y/o hinchazón abdominal, especialmente postprandial.
 - Vómitos: expulsión violenta por la boca del contenido del estómago y de las porciones altas del duodeno.
 - Náuseas: sensación desagradable e inminente de vomitar. Suele localizarse en el epigastrio o en la región centrotorácica, y puede o no culminar en un vómito.
- **Síndrome constitucional.** Cualquiera de los siguientes síntomas:
 - Fiebre: temperatura corporal igual o mayor a 38°C, objetivada, al menos, en dos ocasiones.
 - Síndrome general: astenia, anorexia y/o adelgazamiento de más del 8% del peso corporal total.
- **Síndrome cutáneo:** presencia de prurito y/o aparición de lesiones cutáneas de cualquier tipo en la exploración física. En relación con el prurito distinguió entre prurito anal y el de otra localización.

En general se consideraron síntomas agudos cuando su duración era inferior a 30 días y crónicos cuando la duración fue de 30 días o más.

Se realizó a todos los pacientes una exploración física general, recogándose en las historias clínicas únicamente aquellos datos relevantes.

3.4 PROTOCOLO DIAGNÓSTICO.

A todos los sujetos incluidos en cualquiera de las ramas del estudio se les realizó el mismo protocolo diagnóstico basado en la realización de pruebas hematológicas, bioquímicas y microbiológicas. En algunos pacientes, y de forma puntual, fue preciso solicitar otros estudios.

3.4.1 Pruebas hematológicas.

A todos los pacientes se les realizó un hemograma con el fin de determinar la presencia de eosinofilia, que se definió como una cifra absoluta de eosinófilos superior a 500 células/ μ L. Se clasificó en leve entre 500-999 células/ μ L, moderada entre 1000-1499 células / μ L, y grave por encima de 1500 células/ μ L.

3.4.2 Pruebas bioquímicas.

Se realizó un perfil bioquímico que incluía función hepática y renal. Se consideró que existía una hipertransaminasemia cuando los valores de AST y ALT estaban dos veces por encima del valor normal. Para el resto de las pruebas se consideraron como valores normales los señalados por los distintos laboratorios de referencia.

Tanto las pruebas bioquímicas como las hematológicas se extrajeron mediante venopunción en el Servicio de Extracción de muestras del propio HUCA.

Las muestras fueron procesadas por los laboratorios de dicho centro según sus protocolos, y para la determinación de los valores bioquímicos y hematológicos se emplearon las técnicas habituales de los laboratorios del HUCA, validadas y sometidas a los controles de calidad correspondientes.

3.4.3 Pruebas microbiológicas: estudio coproparasitario.

Para el diagnóstico se analizaron de cada uno de los sujetos incluidos en el estudio, 3 muestras de heces, separadas al menos 24 horas. En el caso de los pacientes que recibieron tratamiento, se solicitaron otras 3 muestras, a las 4 semanas de finalizar el mismo, siguiendo el mismo procedimiento que en el momento del diagnóstico.

Todas las muestras se recogieron en contenedores estériles de plástico, de boca ancha, no porosos y no opacos, para facilitar el examen macroscópico, con cierre hermético para evitar su desecación, limpios y secos. Se aconsejó a los pacientes que la muestra fuera transportada inmediatamente al laboratorio, y de no ser posible se recomendó su conservación en el frigorífico, al menos a 4°C, hasta su posterior transporte.

En todas las muestras se realizó: (i) examen en fresco de la muestra teñida con lugol, (ii) examen tras someter la muestra a un proceso de concentración. Para ello se empleó en primer lugar un test comercial: *Copropack Extraction Kit C100*, Cromakit, España.

Las preparaciones directas teñidas con lugol fueron observadas al microscopio a 10 aumentos para la detección de larvas de helmintos, a 100 aumentos para la detección de huevos, y a 400 aumentos para la visualización de protozoos.

Previo a 2016, se emplearon varias técnicas para el diagnóstico de los diferentes protozoos. Para *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium* spp., se empleó la inmunofluorescencia, basada en una mezcla de anticuerpos monoclonales dirigidos contra la pared de los quistes de *Giardia intestinalis* (176) y los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. (177), a los que se unen si se encuentran en las heces objeto de estudio. Esta reacción tiene lugar en un porta que se examina con un microscopio de fluorescencia, buscando el característico color verde manzana y la morfología de los quistes y ooquistes. Para el diagnóstico de *Entamoeba histolytica* (178), se empleó

la reacción en cadena de la polimerasa, y para *Blastocystis* spp. y *Cyclospora cayetanensis* la microscopía.

En el caso de *D. fragilis* el diagnóstico se basó en la realización de una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional, siguiendo el protocolo diseñado por Stark *et al.* (27). La extracción del ADN se llevó a cabo utilizando un minikit comercial (*QIAmp DNA stool Mini kit*, *Qiagen*, Holanda), según las instrucciones del fabricante. Se realizó una *PCR nested*² sobre el RNA de la subunidad ribosomal 18S de *Dientamoeba fragilis* con los siguientes *primers*³ y perfiles térmicos (Figuras 8 y 9):

1ª parte: DF-400: TATCGGAGGTGGTAATGACC
 DF-1250: CATCTTCCTCCTGCTTAGACG
 2ª parte: DF-500: AACCTAGCAGAGGGCCAGTC
 DF-1000: GGGTCAAAACATTCGCTGT

Figura 8. *Primers* utilizados para la realización de la PCR de *D. fragilis*.

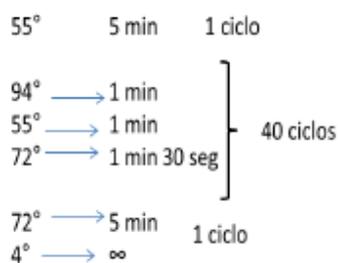


Figura 9. *Perfiles térmicos* de la PCR de *D. fragilis*.

Para verificar que el fragmento de ADN obtenido pertenecía a una secuencia específica de *D. fragilis*, los amplicones (fragmentos de ADN amplificados) de varias muestras positivas se purificaban utilizando *Montage DNA gel System* (*Qiagen*) y posteriormente se secuenciaban con el kit comercial de secuenciación *BigDye Terminator v1.1* (*Applied Biosystems*) usando sus propios *primers*.

²*PCR nested* o anidada: Amplificación de una secuencia de ADN dentro de otra previamente amplificada, lo cual aumenta la sensibilidad y especificidad diagnóstica respecto a la PCR convencional.

³*Primer*: También llamado cebador o iniciador, es una secuencia corta de nucleótidos que se emplea como punto de partida para la síntesis de ADN.

A partir de 2016, se determinó *D. fragilis* mediante una PCR en tiempo real o PCR cuantitativa (Figura 10) múltiple: PCR múltiple *Allplex™ Gastrointestinal Panel Assay 4* (Seegene), que permite el diagnóstico de 6 protozoos simultáneamente: *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium spp.*, *Cyclospora cayetanensis*, *Entamoeba histolytica*, *Dientamoeba fragilis* y *Blastocystis spp.*

Las reacciones de amplificación y su análisis fueron realizadas en el termociclador *CFX Touch Real-Time Detection System* (BioRad, EE.UU.).

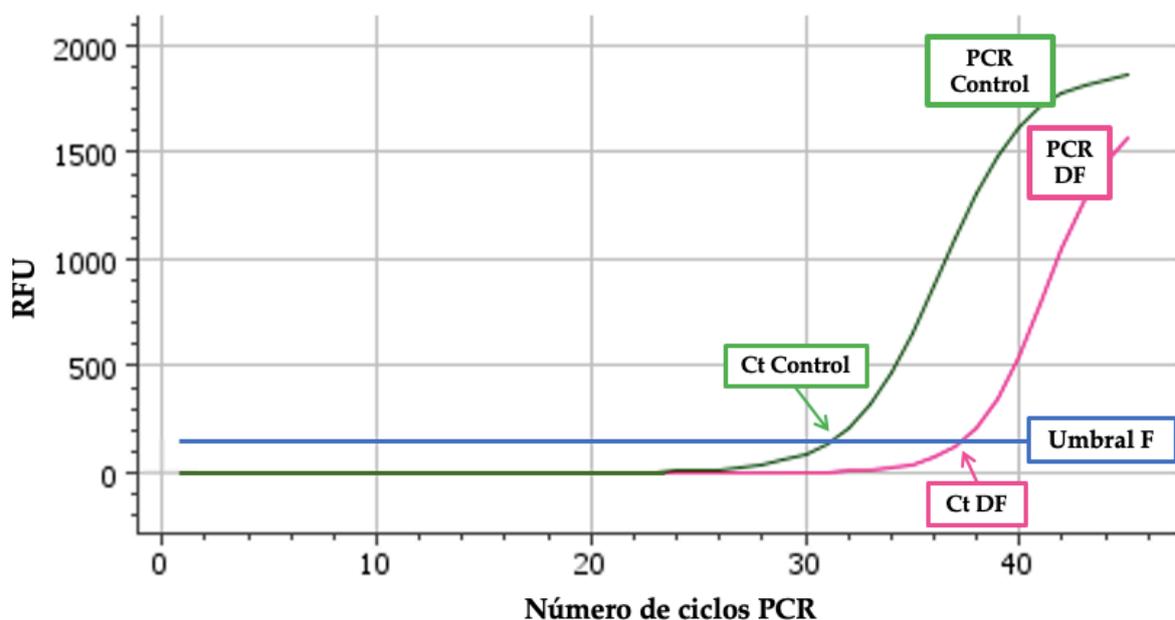


Figura 10. Representación gráfica de los datos de la PCR en tiempo real de *D. fragilis*.

La gráfica representa, en ordenadas las unidades de fluorescencia relativa (RFU) y en abscisas el número de ciclos de la PCR. La línea azul horizontal (Umbral F) marca el nivel umbral de fluorescencia a partir del cual la muestra se considera positiva. La línea verde representa la curva de amplificación de la muestra control (PCR Control), y la línea rosa la curva de amplificación de la muestra de *D. fragilis* (PCR DF). Ct (*cycle treshold*) es el ciclo umbral, es decir, la intersección entre la curva de amplificación y la línea que marca el umbral de fluorescencia, tanto en el caso de la muestra control (Ct Control), como en el caso de la muestra positiva para de *D. fragilis* (Ct DF).

Se realizaron además 3 *test de Graham* en 3 días consecutivos, tanto en el protocolo diagnóstico inicial como en el control tras el tratamiento, con el fin de detectar la presencia de coinfección por *Enterobius vermicularis*. Dicho test consiste

en la colocación de una tira adhesiva de papel de celofán de unos 20 mm de ancho sobre la región perianal del paciente antes del aseo matinal, para posteriormente extenderla sobre un portaobjetos, aplicarle una gota de lugol y evaluarla al microscopio (generalmente a pocos aumentos: 10x). El *test de Graham* permite la identificación de los huevos de *E. vermicularis*, ya que las hembras adultas migran por la noche a la zona perianal para depositarlos.

Se consideró que existía infección por *D. fragilis* si el paciente presentaba una reacción en cadena de la polimerasa positiva según las técnicas descritas anteriormente.

Para el resto de los protozoos en heces se consideró que existía un diagnóstico en firme si cualquiera de las técnicas utilizadas para su diagnóstico (microscopía, IFI, PCR) eran positivas. El diagnóstico de *E. vermicularis* se basó en la positividad del *test de Graham*.

3.4.4 Otros estudios complementarios.

A aquellos pacientes valorados en la consulta y que presentaban algún dato de alarma en la anamnesis y/o en la exploración física, o bien se sospechaba la existencia de alguna patología diferente a la infección por *D. fragilis*, se les solicitó la realización de otras pruebas complementarias.

Entre estos estudios se incluyeron, por un lado, la realización de pruebas de imagen, como ecografía y/o TAC abdominal, realizados por el Servicio de Radiología de HUCA, y, por otro lado, los estudios endoscópicos, realizados por el Servicio de Digestivo de HUCA, fundamentalmente la colonoscopia con toma de biopsias, para su posterior procesamiento y análisis por parte del Servicio de Anatomía patológica del propio hospital.

3.5 TRATAMIENTO.

Los pacientes fueron tratados con los siguientes fármacos y posologías (salvo contraindicación específica):

- Metronidazol: Para adultos y niños mayores de 10 años: 500 mg cada 8 horas durante 10 días. Niños menores de 10 años: 7,5 mg/kg de peso cada 8 horas durante 10 días.
- Paromomicina: Adultos: 500 mg cada 8 horas durante 7 días. Niños menores de 14 años: 25-35 mg/kg/día durante 7 días.

Los pacientes coinfectados por *E. vermicularis* recibieron, además, tratamiento con mebendazol 100 mg cada 12 horas durante 3 días (tanto adultos como niños).

3.6 SEGUIMIENTO.

A todos los pacientes se les realizó un control parasitológico a las 4 semanas tras finalizar el tratamiento, con el fin de comprobar la curación tanto de la infección por *D. fragilis* como por *E. vermicularis* si la hubiese. La curación fue definida en base a la negativización de los estudios parasitológicos. Se consideró recidiva a los nuevos casos que aparecieron antes de haberse completado 30 días de la infección inicial, y reinfección a la aparición de un nuevo caso de infección pasados 30 días o más del caso inicial.

Se definió como curación microbiológica la negativización de todas las pruebas diagnósticas al final del seguimiento. Se definió como curación clínica la desaparición de las manifestaciones clínicas tras completar el tratamiento.

3.6 ESTUDIO DE SESGOS.

Se han estudiado los posibles sesgos que pueden aparecer en el estudio, corrigiéndolos y limitando su impacto en la medida de lo posible.

No existe sesgo de selección pues los criterios de exclusión son los adecuados y no se ha priorizado ningún individuo.

Las principales variables del cuestionario fueron obtenidas de todos los pacientes, no obstante, en algunas variables auxiliares (antecedentes personales, evolución), por la propia dificultad de los estudios retrospectivos, la falta de datos puede haber conllevado sesgo de información. Así, también puede haber sesgo de información en diversos datos (clínica, antecedentes personales) debido a la dificultad de comunicación, por el idioma, con ciertos pacientes, en especial algunos inmigrantes subsaharianos.

Por otro lado, la asignación de tratamientos no fue realizada de forma aleatorizada, dado que se trata de un estudio retrospectivo. En cualquier caso, a la hora de elegir tratamiento, en aquellos pacientes coinfectados por otros parásitos intestinales se optó por el tratamiento con metronidazol.

3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El tratamiento de datos y el estudio estadístico se realizaron mediante el programa IBM SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versión 25.0 (*IBM SPSS Statistics 25.0*). Las variables cuantitativas se expresaron como media y desviación estándar, en caso de normalidad, y como mediana y rango intercuartílico las no normales.

La normalidad se contrastó con el *test de Kolmogorov-Smirnov* si el tamaño muestral era ≥ 30 , y con el *test d'Agostino* para tamaños muestrales menores de 30. La igualdad de varianzas se contrastó con el *test de Levene*.

Para la comparación de las variables cuantitativas según los distintos grupos de análisis se aplicaron los siguientes test estadísticos:

- Si se cumplían las condiciones de normalidad y de igualdad de varianzas, se usó el *test t de Student* al comparar dos grupos, y el *test de ANOVA* de un

factor si se estudiaban más de dos grupos. Cuando el *test de ANOVA* resultó significativo se aplicó el *test post-hoc* o *test de Tukey*.

- Si no se cumplían las condiciones de normalidad e igualdad de varianzas, se usó el *test U de Mann-Whitney* para comparar dos grupos, y el *test de Kruskal-Wallis* si se estudiaban más de dos grupos. Cuando el *test de Kruskal-Wallis* resultó significativo se aplicó el *test de Dunn*.
- Para el análisis de asociación o independencia entre variables cualitativas se utilizó el *test de Chi-cuadrado*. En los casos en los que más del 20% de las casillas tenían una frecuencia inferior a 5 se aplicó la *prueba exacta de Fisher*.
- Se realizó un análisis multivariante utilizando un modelo de regresión logística para determinar los factores relacionados con las distintas hipótesis del estudio.

Como medida del riesgo, en el caso de variables cualitativas se empleó la *Odds Ratio* con un intervalo de confianza del 95%, para describir la magnitud del efecto observado.

A lo largo de todo el estudio los contrastes se consideraron bilaterales, y se calcularon con un intervalo de confianza de 95% y con un nivel de significación alfa de 0,05.

3.8 DECLARACIÓN ÉTICA.

Se solicitó autorización al Comité Ético del Hospital Universitario Central de Asturias para la revisión de historias clínicas y posterior recogida de datos de todos los pacientes incluidos en el estudio, siendo concedida (Anexo 2).

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES.

4.1.1 Características demográficas.

Durante el periodo de estudio fueron diagnosticados de infección por *D. fragilis* **163 pacientes**, de un total de **892 estudiados**, lo que indica una prevalencia de 18,27%. Las características de los pacientes se describen en la tabla 6.

Del total de pacientes, ochenta y siete pertenecían al sexo femenino (53,37%), con un ratio varón/mujer de 1/1,14. La edad media fue de 34,69 [±18,94] años con un rango entre 4 y 77 años. Treinta y cuatro pacientes (20,86%) eran niños de edad igual o menor a 14 años. En la figura 11 se representan los pacientes distribuidos por grupos de edad, destacando la presencia de 2 picos de incidencia: el primero en niños entre los 5 y 14 años, y el segundo pico en adultos entre 30 y 39 años.

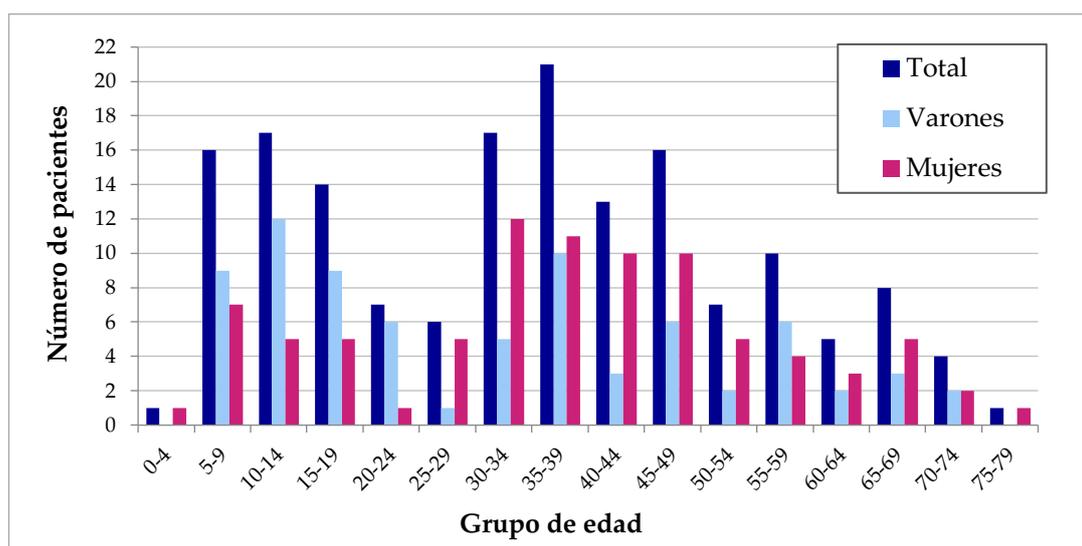


Figura 11. Incidencia de la infección por *Dientamoeba fragilis* por grupos de edad.

Dentro de los pacientes de edad menor o igual a 14 años se observó una predominancia del sexo masculino (61,76%), no así en pacientes mayores de 14 años en los que el sexo femenino representa un 57,36%. Las diferencias entre los niños y los adultos se muestran en la tabla 7.

Tabla 6. Características de los pacientes incluidos en el estudio.

Parámetro	Pacientes (N= 163)
Características demográficas:	
Sexo (mujeres)	87 (53,37%)
Ratio varón/mujer	1/1,14
Edad (Media [DS])	34,69 [±18,94] (4-77)
Niños ≤ 14 años	34 (20,86%)
Procedencia:	
Autóctono	90 (55,21%)
Inmigrante	50 (30,67%)
Viajero	23 (14,11%)
Características epidemiológicas:	
Contacto con niños ≤ 14 años	78 (47,85%)
Residencia en zona rural	50 (30,67%)
Contacto con animales	32 (19,63%)
Características clínicas:	
Asintomáticos	56 (34,36%)
Dolor abdominal	61 (37,42%)
Distensión abdominal	16 (9,82%)
Diarrea aguda	10 (6,13%)
Diarrea crónica	24 (14,72%)
Náuseas / vómitos	8 (4,91%)
Ileitis/ colitis	3 (1,84%)
Pérdida de peso	8 (4,91%)
Fiebre	2 (1,23%)
Clínica cutánea	13 (7,98%)
Prurito cutáneo	11 (6,75%)
Prurito anal	10 (6,13%)
Duración de los síntomas (días)	141,77 [±155,03] (4-730)
Eosinofilia	43 (26,38%)
Cifra de eosinófilos (células/mm ³)	1.176,37 [±1110,75] (530-7866)
Características microbiológicas:	
<i>Enterobius vermicularis</i>	40 (24,54%)
<i>Enterobius vermicularis</i> en convivientes	50 (30,67%)
<i>Blastocystis</i> spp.	30 (18,40%)
<i>Entamoeba</i> spp.	10 (6,13%)
<i>Strongyloides stercoralis</i>	20 (12,27%)
<i>Giardia intestinalis</i>	4 (2,45%)
Tratamiento:	154 (95,09%)
Metronidazol	85 (52,76%)
Paromomicina	69 (42,33%)
Evolución:	
Curación (1 ^a línea de tratamiento) Si/No	140/14
Metronidazol (curación/ fracasos)	75/10 (88,24%)
Paromomicina (curación/fracasos)	65/4 (94,20%)
Curación espontánea	1 (0,61%)

Tabla 7. Características diferenciales de los pacientes en función de su edad.

Parámetros	Edad ≤ 14 años N= 34	Edad > 14 años N=129	p- valor	OR
Caract. demográficas:				
Sexo (Femenino %)	13 (38,24%)	74 (57,36%)	0,047	0,460 [0,212-0,998]
Edad (Media [DS])	9,18 [±3,25] (4-14)	41,41 [±15,26] (15-77)	0,000	-
Procedencia:				
Autóctono	26 (74,47%)	64 (49,61%)	0,005	3,301 [1,391-7,834]
Inmigrante	5 (14,71%)	45 (34,89%)	0,023	0,322 [0,117-0,889]
Viajero	3 (8,82%)	20 (15,50%)	0,414	0,527 [0,147-1,892]
Caract. epidemiológicas:				
Contacto con niños ≤ 14 años	32 (94,12%)	46 (35,66%)	<0,0001	28,870 [6,616-125,977]
Residencia en zona rural	12 (35,29%)	38 (29,46%)	0,512	1,306 [0,588-2,904]
Contacto con animales	7 (20,59%)	25 (19,38%)	0,888	1,079 [0,422-2,758]
Características clínicas:				
Asintomáticos	13 (38,24%)	43 (33,33%)	0,590	1,238 [0,566-2,708]
Dolor abdominal	13 (38,24%)	48 (37,21%)	0,920	1,045 [0,480-2,275]
Distensión abdominal	0 (0,00%)	16 (12,40%)	0,045	0,100 [0,006-1,705]
Diarrea aguda	0 (0,00%)	10 (7,75%)	0,123	0,165 [0,009-2,887]
Diarrea crónica	2 (5,88%)	22 (17,05%)	0,173	0,304 [0,068-1,363]
Náuseas / vómitos	1 (2,94%)	7 (5,43%)	0,693	0,528 [0,063-4,446]
Ileitis/ colitis	0 (0,00%)	3 (2,33%)	0,604	0,524 [0,026-10,386]
Pérdida de peso	0 (0,00%)	8 (6,20%)	0,207	0,207 [0,012-3,680]
Fiebre	1 (2,94%)	1 (0,78%)	0,375	3,879 [0,236-63,667]
Clínica cutánea	3 (8,82%)	10 (7,75%)	1,000	1,152 [0,299-4,440]
Prurito cutáneo	2 (5,88%)	9 (6,98%)	1,000	0,833 [0,172-4,050]
Prurito anal	1 (2,94%)	9 (6,98%)	0,472	0,404 [0,049-3,305]
Eosinofilia	14 (41,18%)	29 (22,48%)	0,028	2,414 [1,086-5,363]
Cifra eosinófilos (cél/mm ³)	1142,86 [±401,64] (550-1780)	1192,55 [±1332,26] (530-7866)	0,282	-
Duración síntomas (días)	175,30 [±144,03] (5-418)	135,67 [±157,42] (4-730)	0,184	-
Microbiología:				
<i>Enterobius vermicularis</i>	20 (58,82%)	20 (15,50%)	<0,0001	7,786 [3,385-17,908]
<i>E. vermicularis</i> en convivientes	23 (67,65%)	27 (20,93%)	<0,0001	7,899 [3,429-18,195]
<i>Blastocystis</i> spp.	4 (11,76%)	26 (20,16%)	0,383	0,528 [0,171-1,633]
<i>Entamoeba</i> spp.	1 (2,94%)	10 (7,75%)	0,462	0,361 [0,045-2,920]
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1 (2,94%)	19 (14,73%)	0,078	0,175 [0,023-1,360]
Tratamiento:				
Metronidazol	25 (73,53%)	60 (46,51%)	0,005	3,194 [1,384-7,376]
Paromomicina	8 (23,53%)	61 (47,29%)	0,013	0,343 [0,145-0,814]
Evolución:				
Curación Metronidazol (Si/No)	6/2	52/8	0,593	0,462 [0,079-2,696]
Curación Paromomicina (Si/No)	23/2	59/2	0,576	0,390 [0,052-2,934]

La mayoría de los pacientes diagnosticados de infección por *D. fragilis* eran de procedencia autóctona (55,21%), seguidos de inmigrantes (30,67%) y viajeros (14,11%). En el caso de los inmigrantes, los países de origen por orden de frecuencia fueron: Guinea Ecuatorial (14 casos), Ecuador (13 casos), Colombia (6 casos), Paraguay y Pakistan (4 casos cada uno), Bolivia y Sahara (2 casos cada uno) y otros países: Brasil, Camerún, Israel, Mali, Pakistan y Senegal (1 caso cada uno) (Fig. 12).

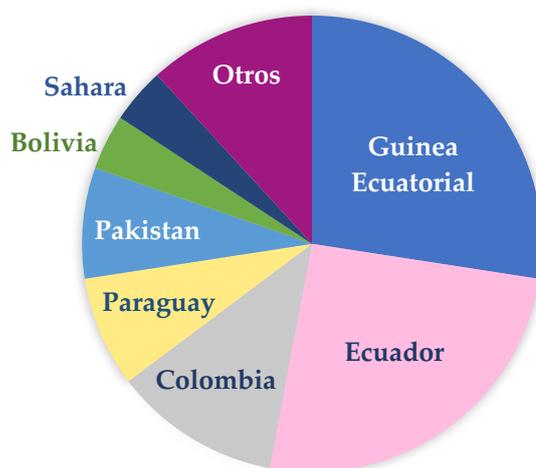


Figura 12. País de procedencia de los pacientes inmigrantes incluidos en el estudio.

La estancia promedio en España de los inmigrantes previa a la consulta fue de 1949,53 [\pm 1912,47] días, con un rango entre 4 y 7466 días. Siete de ellos llevaban viviendo en España menos de 90 días.

Veintitrés pacientes eran viajeros (14,11%), de los cuales trece (56,52%) correspondían a inmigrantes que habían regresado temporalmente a sus lugares de origen (VFR). En cinco casos, el destino del viaje había sido Guinea Ecuatorial, en tres casos Senegal, Tailandia y Tanzania respectivamente, en dos casos Colombia y Nigeria, y en los otros seis casos: Argentina, Bolivia, Brasil, China e Israel (un caso cada uno). El tiempo medio transcurrido entre el viaje y la primera visita fue de 79,76 [\pm 120,25] días, con un rango entre 3 y 365 días.

Las características generales de los tres grupos de pacientes según su procedencia (autóctonos, inmigrantes y viajeros) se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Características diferenciales de los pacientes según su procedencia: autóctonos, inmigrantes y viajeros.

Parámetros	Pacientes autóctonos N=90	Inmigrantes N= 50	Viajeros N= 23	p- valor
Caract. demográficas:				
Sexo (Femenino%)	49 (54,44%)	26 (50,98%)	12 (52,17%)	0,956
Edad (Media [DS])	35,03 [±21,32] (5-77)	32,84 [±15,05] (5-60)	37,35 [±16,83] (4-71)	0,684
Niños ≤ 14 años	26 (28,89%)	5 (10,00%)	3 (13,04%)	0,019
Caract. epidemiológicas:				
Contacto con niños ≤ 14 años	53 (58,89%)	19 (38,00%)	6 (26,09%)	0,005
Residencia en zona rural	26 (28,89%)	13 (26,00%)	11 (47,83%)	0,147
Contacto con animales	17 (18,89%)	8 (16,00%)	7 (30,43%)	0,341
Características clínicas:				
Asintomáticos	30 (33,33%)	18 (36,00%)	8 (34,78%)	0,951
Dolor abdominal	33 (36,67%)	18 (36,00%)	10 (43,48%)	0,807
Distensión abdominal	8 (8,89%)	5 (10,00%)	3 (13,04%)	0,815
Diarrea aguda	4 (4,44%)	2 (4,00%)	4 (17,39%)	0,078
Diarrea crónica	16 (17,78%)	5 (10,00%)	3 (13,04%)	0,477
Náuseas / vómitos	5 (5,56%)	2 (4,00%)	1 (4,35%)	1,000
Ileitis/ colitis	0 (0,00%)	2 (4,00%)	1 (4,35%)	0,120
Pérdida de peso	4 (4,44%)	3 (6,00%)	1 (4,35%)	0,881
Fiebre	2 (2,22%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0,659
Clínica cutánea	8 (8,89%)	4 (8,00%)	1 (4,35%)	0,923
Prurito cutáneo	7 (7,78%)	2 (4,00%)	2 (8,70%)	0,678
Prurito anal	8 (8,89%)	2 (4,00%)	0 (0,00%)	0,349
Eosinofilia	27 (30,00%)	13 (26,00%)	3 (13,04%)	0,257
Cifra eosinófilos (cél/mm ³)	1030,63 [±404,15] (530-1780)	974,69 [±352,50] (560-1567)	3362,00 [±3914,51] (780-7866)	0,394
Duración síntomas (días)	441,63 [±486,62] (9-1780)	90,46 [±99,50] (4-344)	48,79 [±44,66] (10-180)	0,003
Caract. microbiológicas:				
<i>Enterobius vermicularis</i>	34 (37,78%)	5 (9,80%)	1 (4,35%)	<0,001
<i>E. vermicularis</i> en convivientes	39 (43,33)	8 (16,00%)	3 (13,04%)	<0,001
<i>Blastocystis</i> spp.	19 (21,11%)	11 (21,57%)	0 (0,00%)	0,048
<i>Entamoeba</i> spp.	2 (2,22%)	7 (13,73%)	1 (4,35%)	0,020
<i>Strongyloides stercoralis</i>	4 (4,44%)	13 (26,00%)	3 (13,04%)	0,001
Tratamiento:				
Metronidazol	47 (52,22%)	25 (50,00%)	13 (56,52%)	0,874
Paromomicina	40 (44,44%)	20 (40,00%)	9 (39,13%)	0,831
Evolución:				
Curación Metronidazol (Si/No)	39/8	24/1	12/1	0,266
Curación Paromomicina (Si/No)	37/3	20/0	8/1	0,332

No hay diferencias significativas en relación con el sexo ni con la edad entre los tres grupos, aunque si en la presencia de niños ≤ 14 años ($p=0,019$), que resultó más frecuentes en el grupo de pacientes autóctonos.

4.1.2 Características epidemiológicas.

El estudio epidemiológico mostró que un 69,33% de los pacientes residía en zonas urbanas, aunque cuatro familias viajaban durante el fin de semana a una segunda residencia situada en zona rural. De los pacientes residentes en zonas rurales, 11 realizaban labores agrícolas sin guantes ni protección de ningún tipo.

Aunque hubiera sido interesante el estudio de superficies o alimentos potencialmente contaminados, excedía el objetivo de este trabajo, sin embargo, es de reseñar el caso de una familia que tenía una segunda residencia rural, en la que existía un tanque de agua, en el cual se demostró la presencia de *Dientamoeba fragilis*.

Con respecto a los animales de compañía, únicamente treinta y dos pacientes (19,63%) tenían contacto con ellos, mayoritariamente gatos, perros, caballos y vacas. Una familia en la que sus dos miembros estaban infectados, vivía en zona rural y tenía un contacto profesional con animales (caballos, ovejas, perros), a los que se realizó un estudio veterinario sin que se demostrase la presencia de *D. fragilis*.

No se encontraron diferencias significativas respecto a la residencia en medio urbano o rural o a la presencia de animales entre los tres grupos.

En 78 casos (47,85%), los pacientes habían estado en contacto con niños por debajo de los 14 años, especialmente en el grupo de pacientes autóctonos ($p=0,005$).

Es difícil hablar de estacionalidad en un protozoo del que se desconoce su periodo de incubación, aunque parece haber un predominio de casos en los meses de mayo y junio, por un lado, y noviembre y diciembre por otro. Se observa, además, un claro descenso en la incidencia en los meses de verano (julio y agosto) (Fig. 13).

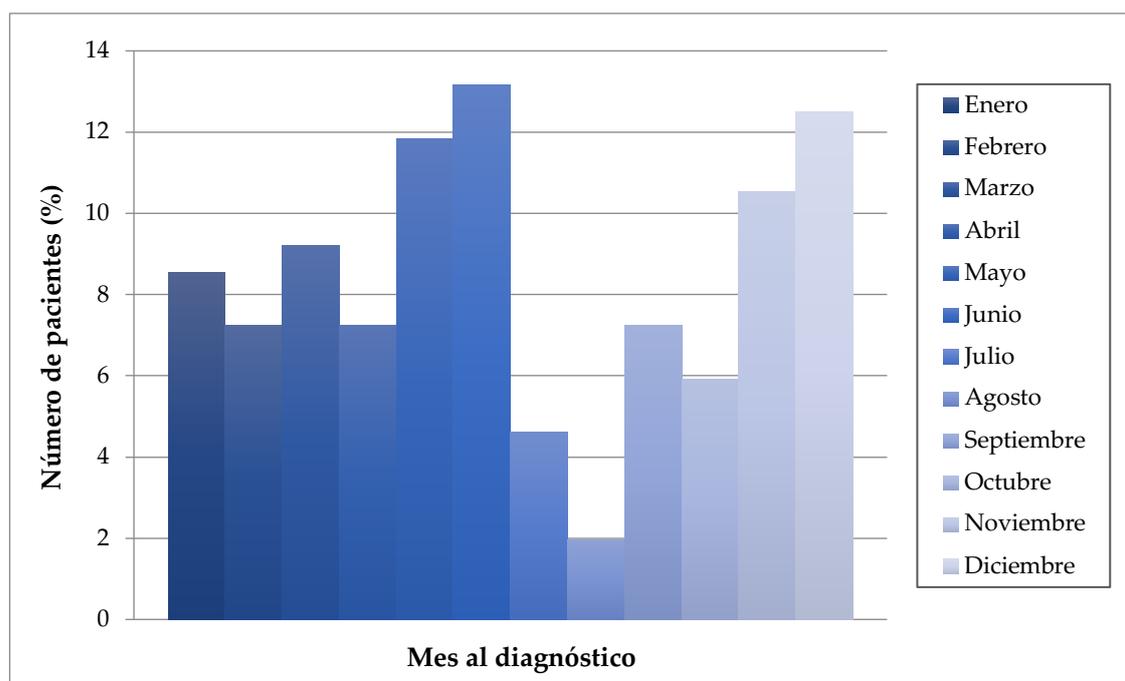


Figura 13. Incidencia de la infección por *D. fragilis* en cada mes del año.

4.1.3 Características clínicas.

De los 163 pacientes con infección confirmada por *D. fragilis*, los motivos de consulta fueron, por orden de frecuencia: razones epidemiológicas, (39,88%), entre las que destaca el estudio de contactos o convivientes de pacientes infectados, dolor abdominal (17,80%), eosinofilia (11,04%), diarrea (9,82%), cribado (19,05%), problemas cutáneos (9,52%) y fiebre (0,61%). El resto de pacientes (9,82%) consultaron por otros motivos, como prurito generalizado, artromialgias y pérdida de peso.

Cincuenta y seis pacientes (34,36%) se encontraban asintomáticos al diagnóstico. En el grupo de pacientes sintomáticos, la mayoría de ellos describió un síntoma (58,88%), 29,90% describió dos, 7,48% tres y 3,74% cuatro o más síntomas (Fig. 14).



Figura 14. Porcentaje de pacientes asintomáticos, con 1, 2, 3 y 4 ó más síntomas.

Los síntomas referidos por los pacientes por orden de frecuencia fueron: dolor abdominal (37,42%), diarrea crónica (14,72%), distensión abdominal (9,82%), alteraciones cutáneas (7,98%), prurito cutáneo (6,75%), diarrea aguda y prurito anal (6,13% cada uno), náuseas/ vómitos y pérdida de peso (4,91% cada uno), fiebre e ileitis (1,23% cada uno) y colitis (0,61%) (Fig. 15).

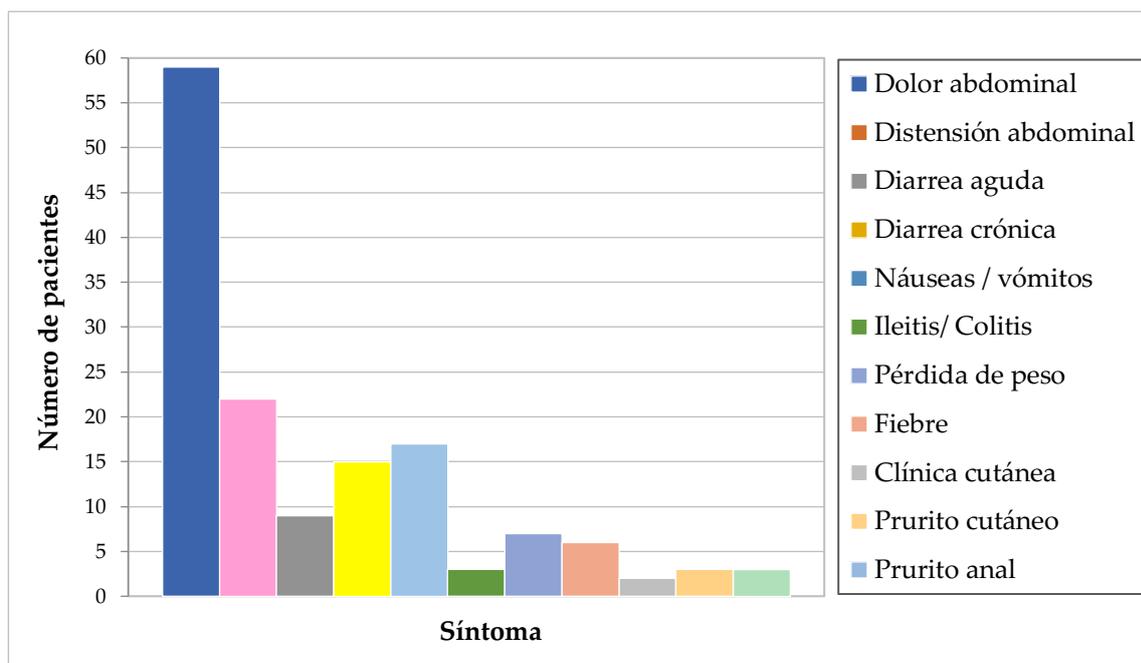


Figura 15. Frecuencia de los síntomas presentados por los pacientes.

En referencia a la sintomatología clínica según el origen de los pacientes no se encontraron diferencias significativas en la presencia o no, el tipo y el número de síntomas entre los tres grupos.

El examen físico mostró dolor abdominal difuso en la paciente con colitis, dolor localizado en fosa iliaca derecha en los dos pacientes con ileitis, y sensibilidad abdominal en otros veintisiete. En los demás pacientes, el examen físico fue normal.

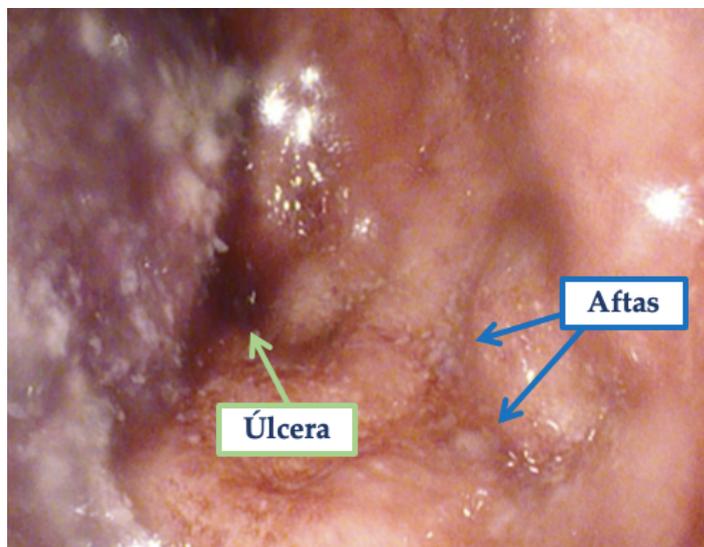
Los trece pacientes con manifestaciones cutáneas presentaron prurito cutáneo, acompañado de una reacción urticariforme en 6 de ellos. En este grupo, la coinfección con *Blastocystis* spp. fue más frecuente (5 de 13 pacientes, $p=0,066$, OR 3,125 [0,944-10,345]) así como la presencia de eosinofilia en sangre periférica (8 de 13 pacientes, $p=0,0002$; OR 11,03 [3,268-37,238]), resultando estadísticamente significativa únicamente esta última.

De los 163 pacientes del estudio, tres presentaron cuadros clínicos de mayor severidad: dos en forma de ileitis y una paciente en forma de colitis. Los tres casos fueron diagnosticados mediante colonoscopia y toma de biopsias, que posteriormente fueron procesadas y analizadas por el Servicio de Anatomía patológica. En ninguno de los 3 pacientes se logró demostrar la presencia de *D. fragilis* en las muestras histológicas (si en el estudio coproparasitario), pero tanto la sintomatología referida por los pacientes, como las alteraciones inflamatorias observadas a nivel intestinal y la buena respuesta clínica al tratamiento, son datos que sitúan a *D. fragilis* como causante principal del cuadro clínico.

Las figuras 16 y 17 pertenecen a la colonoscopia realizada a la paciente diagnosticada de colitis por *D. fragilis*. En ellas se aprecia la afectación de la mucosa del colon que se extiende desde el margen anal hasta el ángulo esplénico del colon. La mucosa se encuentra eritematosa, con pérdida del patrón vascular, muy friable y sangrante de forma espontánea, y con presencia de coágulos (Fig. 16). Además, llama la atención la presencia de aftas y úlceras (Fig. 17), hallazgos todos ellos compatibles con colitis infecciosa.



*Figura 16. Mucosa de colon descendente de paciente con colitis por *D. fragilis*. Se observa un punteado eritematoso, pérdida del patrón vascular y la presencia de coágulos.*



*Figura 17. Úlcera y aftas localizadas en la mucosa del colon descendente de paciente con colitis por *D. fragilis*.*

En las colitis infecciosas por *D. fragilis* se ha descrito afectación de las capas de la mucosa (epitelio de superficie, lámina propia y *muscularis mucosae*), y de la submucosa (103,106), permaneciendo las capas muscular y serosa indemnes.

En relación con la histología de las muestras de colon descendente tomadas a la paciente anterior, se observa una distorsión arquitectural, con la presencia de eosinófilos y neutrófilos en la lámina propia. Estos últimos penetran en las criptas e infiltran el epitelio de superficie (Figuras 18A y B).

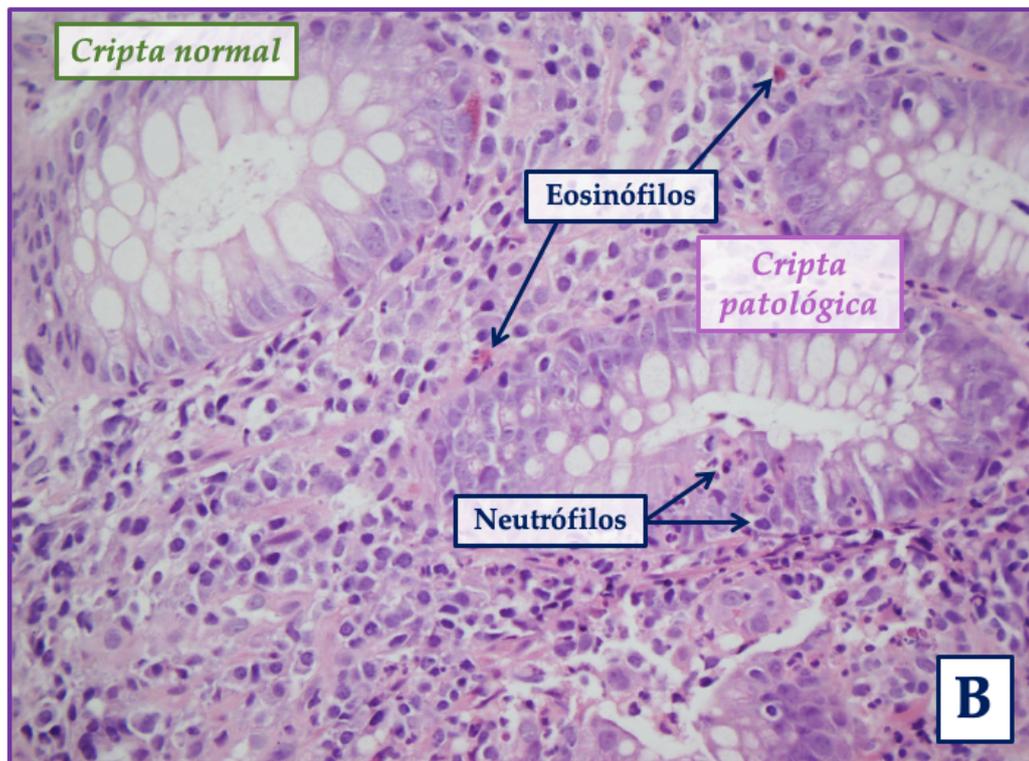
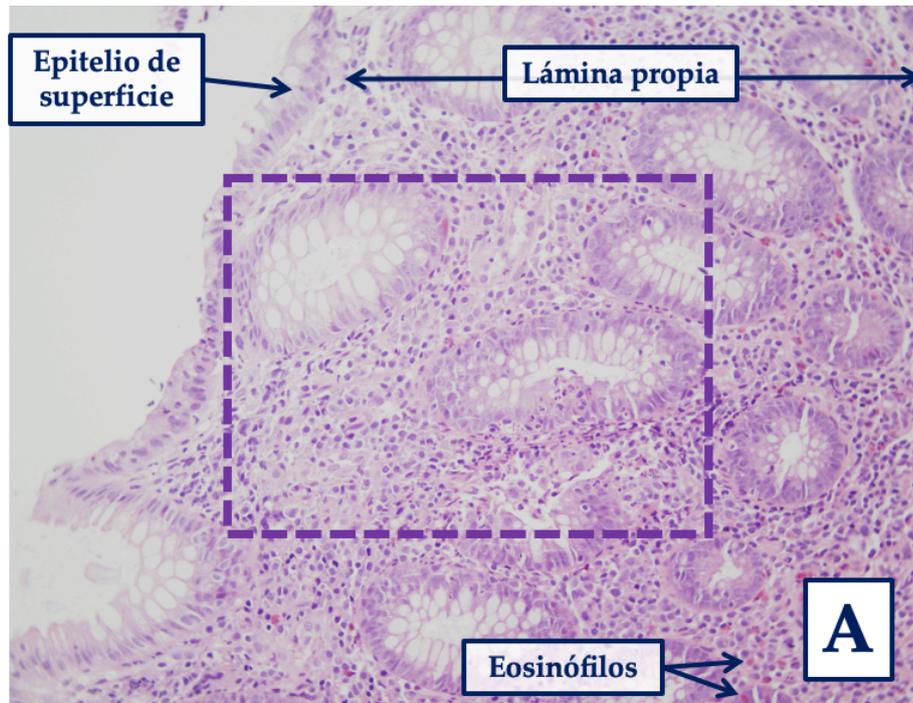


Figura 18. Biopsia de colon de paciente con colitis por *D. fragilis* teñidas con hematoxilina-eosina. A: Biopsia 20x, en la que se aprecian dos de las tres capas de la mucosa: el epitelio de superficie y la lámina propia. B: Biopsia 40x que muestra un fragmento de la figura anterior, únicamente de la lámina propia. En ambas figuras se aprecia la existencia de criptas, cuya arquitectura está alterada al presentar un infiltrado de neutrófilos. También se observa la presencia de eosinófilos en la lámina propia.

La duración media de los síntomas antes de la primera visita fue de 141,77 [$\pm 155,03$] días (límites 4-730). Al analizar la duración de los síntomas en los tres grupos de pacientes (autóctonos, inmigrantes y viajeros) mediante el test de *Kruskal-Wallis*, se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,003$). Se aplicó posteriormente el test de *Dunn* con resultados estadísticamente significativos al comparar el grupo de pacientes autóctonos con el de viajeros ($p=0,002$), y al comparar el grupo de pacientes autóctonos con el de inmigrantes ($p=0,027$). No hubo diferencias entre inmigrantes y viajeros ($p=0,478$). La duración de los síntomas fue, por tanto, significativamente superior en los pacientes autóctonos.

Dentro de los 106 pacientes sintomáticos, en 65 fue posible recoger con fiabilidad la duración de los síntomas, lo que permitió comparar aquellos con infección aguda y crónica (Tabla 9). De estos pacientes, un elevado porcentaje (50 casos, 76,92%) había presentado sintomatología clínica durante 30 días o más (infección crónica), y los restantes (15 casos, 23,08%) referían síntomas de una duración menor a 30 días (infección aguda).

No se encontraron diferencias significativas en el sexo, edad o presencia de niños de edad ≤ 14 años. El porcentaje de pacientes de procedencia autóctona fue significativamente superior en el grupo de infección crónica ($p=0,016$).

La infección aguda se asoció con el antecedente de viajes en los días previos, aunque sin significación estadística ($p=0,072$; OR 3,500 [0,973-12,590]). En el grupo de pacientes con infección crónica fue más frecuente en antecedente de contacto con niños ≤ 14 años ($p=0,016$; OR=4,250 [1,246-14,497]).

En relación con la sintomatología clínica únicamente se observaron diferencias estadísticamente significativas en el caso de la diarrea aguda, presente únicamente en los pacientes con infección aguda ($p<0,001$, 52,905 [2,713-1031,686]), y la diarrea crónica presente en los pacientes con infección crónica ($p=0,007$; OR 19,191 [1,086-339,236]).

Tabla 9. Características de los pacientes con infección aguda y crónica.

Parámetros	Infección aguda N= 15	Infección crónica N=50	P- valor	OR
Caract. demográficas:				
Sexo (Femenino %)	9 (60,00%)	24 (48,00%)	0,417	1,625 [0,503-5,249]
Edad (Media [DS])	39,13 [±17,30] (5-71)	35,54 [±20,37] (5-77)	0,478	-
Niños ≤ 14 años	1 (6,67%)	9 (18,00%)	0,431	0,325 [0,038-2,803]
Procedencia:				
Autóctono	4 (26,67%)	33 (61,11%)	0,016	0,298 [0,085-1,041]
Inmigrante	5 (33,33%)	8 (16,00%)	0,268	2,625 [0,706-9,759]
Viajero	6 (40,00%)	8 (16,00%)	0,072	3,500 [0,973-12,590]
Caract. epidemiológicas:				
Contacto con niños ≤ 14 años	5 (33,33%)	34 (68,00%)	0,016	0,235 [0,069-0,803]
Residencia en zona rural	6 (40,00%)	11 (22,00%)	0,191	2,364 [0,690-8,093]
Contacto con animales	3 (20,00%)	7 (14,00%)	0,685	1,536 [0,344-6,857]
Características clínicas:				
Asintomáticos	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1,000	3,258 [0,062-171,098]
Dolor abdominal	8 (53,33%)	30 (60%)	0,647	0,762 [0,239-2,434]
Distensión abdominal	2 (13,33%)	7 (14,00%)	1,000	0,945 [0,175-5,119]
Diarrea aguda	5 (33,33%)	0 (0,00%)	<0,001	52,905 [2,713-1031,686]
Diarrea crónica	0 (0,00%)	19 (38,00%)	0,007	0,052 [0,003-0,921]
Náuseas / vómitos	1 (6,67%)	5 (10,00%)	1,000	0,643 [0,069-5,974]
Ileítis/ colitis	0 (0,00%)	3 (6,00%)	0,579	0,438 [0,021-8,955]
Pérdida de peso	0 (0,00%)	5 (10,00%)	0,333	0,267 [0,014-5,109]
Fiebre	0 (0,00%)	1 (2,00%)	1,000	1,065 [0,041-27,485]
Clínica cutánea	2 (13,33%)	6 (12,33%)	1,000	1,128 [0,203-6,274]
Prurito cutáneo	1 (6,67%)	8 (16,00%)	0,446	0,375 [0,043-3,268]
Prurito anal	1 (8,89%)	5 (10,00%)	1,000	0,643 [0,069-5,974]
Eosinofilia	3 (20,00%)	19 (38,00%)	0,327	0,408 [0,102-1,635]
Cifra eosinófilos (cél/mm ³)	1023,33 [±400,54] (590-1380)	1370,11 [±1617,33] (530-7866)	0,929	-
Duración síntomas (días)	14,33 [±7,25] (4-28)	180,00 [±157,84] (30-730)	<0,001	-
Microbiología:				
<i>Enterobius vermicularis</i>	3 (20,00%)	15 (30,00%)	0,529	0,583 [0,144-2,371]
<i>E. vermicularis</i> en convivientes	2 (13,33%)	16 (32,00%)	0,201	0,327 [0,066-1,624]
<i>Blastocystis</i> spp.	2 (13,33%)	6 (12,00%)	1,000	1,128 [0,203-6,274]
<i>Entamoeba</i> spp.	0 (0,00%)	3 (6,00%)	0,579	0,438 [0,021-8,955]
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2 (13,33%)	3 (6,00%)	0,582	2,410 [0,364-15,982]
Tratamiento:				
Metronidazol	5 (33,33%)	25 (50,00%)	0,256	0,500 [0,149-1,674]
Paromomicina	9 (60,00%)	23 (46,00%)	0,343	1,761 [0,545-5,692]
Evolución:				
Curación Metronidazol (Si/No)	4/1	21/4	1,000	0,762 [0,067-8,727]
Curación Paromomicina (Si/No)	8/1	21/2	1,000	0,762 [0,060-9,611]

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las coinfecciones, el tratamiento recibido, ni las tasas de curación entre los pacientes con infección aguda y crónica.

Comparando las características de pacientes sintomáticos y asintomáticos no se encontraron diferencias significativas en el sexo, edad, origen, presencia de niños y otras coinfecciones entre ambos grupos. Las características de los pacientes sintomáticos y asintomáticos se muestran en la tabla 10.

Tabla 10. Características diferenciales de los pacientes sintomáticos y asintomáticos.

Parámetros	Pacientes sintomáticos N=107	Pacientes asintomáticos N= 56	p- valor	OR
Caract. demográficas:				
Sexo (Femenino %)	60 (56,07%)	27 (48,21%)	0,340	1,371 [0,717-2,623]
Edad (Media [DS])	34,58 [±19,42] (5-77)	34,89 [±18,16] (4-72)	0,923	-
Niños ≤ de 14 años	21 (19,63%)	13 (23,21%)	0,590	0,808 [0,369-1,767]
<u>Procedencia:</u>				
Autóctono	60 (56,07%)	30 (53,57%)	0,764	1,106 [0,578-2,118]
Inmigrante	32 (29,91%)	18 (32,14%)	0,858	0,901 [0,449-1,808]
Viajero	15 (14,02%)	8 (14,29%)	1,000	0,987 [0,387-2,470]
Caract. epidemiológicas:				
Contacto con niños ≤ 14 años	48 (44,86%)	30 (53,57%)	0,290	0,705 [0,369-1,349]
Residencia en zona rural	28 (26,17%)	22 (39,29%)	0,085	0,548 [0,275-1,090]
Contacto con animales	17 (15,89%)	15 (26,79%)	0,096	0,516 [0,235-1,134]
Microbiología:				
<i>Enterobius vermicularis</i>	29 (27,10%)	11 (19,64%)	0,294	1,521 [0,694-3,335]
<i>E. vermicularis</i> en convivientes	32 (29,91%)	18 (32,14%)	0,764	0,901 [0,449-1,808]
<i>Blastocystis</i> spp.	19 (17,76%)	11 (19,64%)	0,764	0,883 [0,387-2,015]
<i>Entamoeba</i> spp.	5 (4,67%)	5 (8,93%)	0,314	0,500 [0,138-1,806]
<i>Strongyloides stercoralis</i>	11 (10,28%)	9 (16,07%)	0,284	0,598 [0,232-1,543]
Tratamiento:				
Metronidazol	101 (94,39%)	53 (94,64%)	1,000	0,953 [0,229-3,963]
Paromomicina	56 (52,34%)	29 (51,79%)	1,000	1,022 [0,535-1,953]
	45 (42,06%)	24 (42,86%)	0,920	0,968 [0,503-1,861]
Evolución:				
Curación Metronidazol (Si/No)	49/7	26/3	1,000	0,808 [0,193-3,388]
Curación Paromomicina (Si/No)	41/4	24/0	0,290	0,188 [0,010-3,647]

Del total de pacientes, cuarenta y tres (26,38%) tenían eosinofilia en sangre con una media de 1176,37 [\pm 1110,75] (rango 530-7866) células/ mm³, siendo ésta leve en 22 pacientes (51,16%), moderada en 12 pacientes (27,91%) y severa en 9 pacientes (20,93%). La eosinofilia fue el único dato clínico en dieciocho pacientes. Trece pacientes con eosinofilia estaban coinfectados por *E. vermicularis* (p=0,313) y seis por *Strongyloides stercoralis* (p=0,699). No se evidenció ninguna otra alteración en la analítica sanguínea.

Comparando la cifra de eosinófilos en los pacientes con eosinofilia (\geq 500 cel/mm³) según la procedencia (autóctonos, inmigrantes y viajeros) no se observaron diferencias significativas (p=0,394). Tampoco se observaron diferencias al comparar los pacientes con infección aguda y crónica (p=0,929), ni al comparar los pacientes con y sin síntomas (p=0,725).

Aunque no se realizó de manera rutinaria, en la paciente diagnosticada de colitis se solicitó una determinación de calprotectina en heces, que se encontraba llamativamente elevada: 2540 μ g/g de heces (valores normales: 0-50 μ g/g de heces).

En cuanto a otras infecciones parasitarias, cuarenta casos (24,54%) tuvieron una coinfección por *Enterobius vermicularis*, treinta (18,40%) por *Blastocystis* spp, veinte (12,27%) por *Strongyloides stercoralis*, diez (6,13%) por *Entamoeba* spp. y cuatro (2,45%) por *Giardia intestinalis* (Fig. 19).

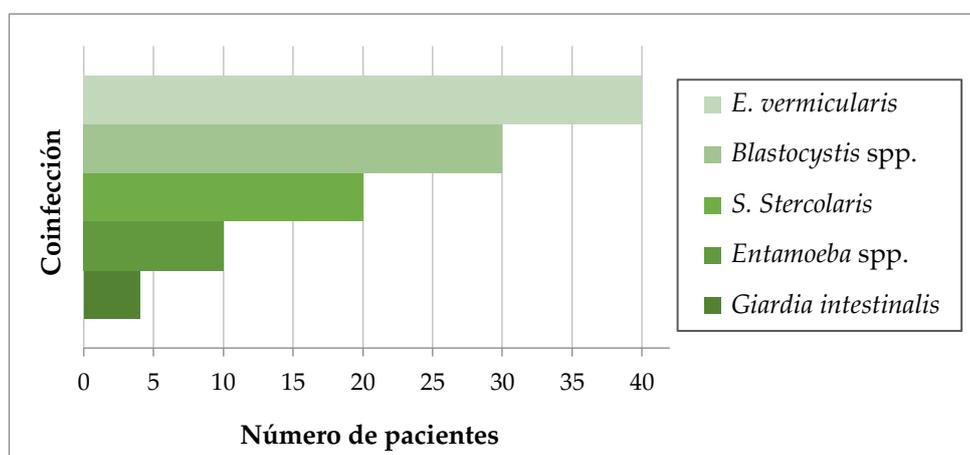


Figura 19. Coinfecciones más frecuentes presentadas por los pacientes.

La infección por *E. vermicularis* fue más frecuente en pacientes autóctonos (85,00%) (Fig. 20), en niños de edad ≤ 14 años (50,00%) (Fig. 21) y en hombres (52,50%); resultando estadísticamente significativa en pacientes autóctonos ($p < 0,001$) y en niños ($p < 0,0001$; OR 7,786 [3,385-17,908]). No hubo diferencias significativas en la duración de los síntomas entre los pacientes coinfectados por *E. vermicularis* y los no coinfectados (132,89 [$\pm 114,22$] (15-365) días frente a 142,98 [$\pm 169,53$] (4-730) días, $p = 0,552$).

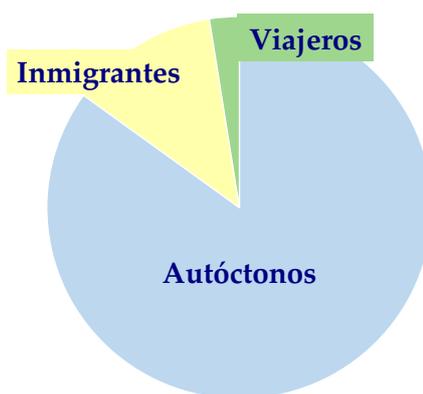


Figura 20. Coinfección por *E. vermicularis* según la procedencia de los pacientes.

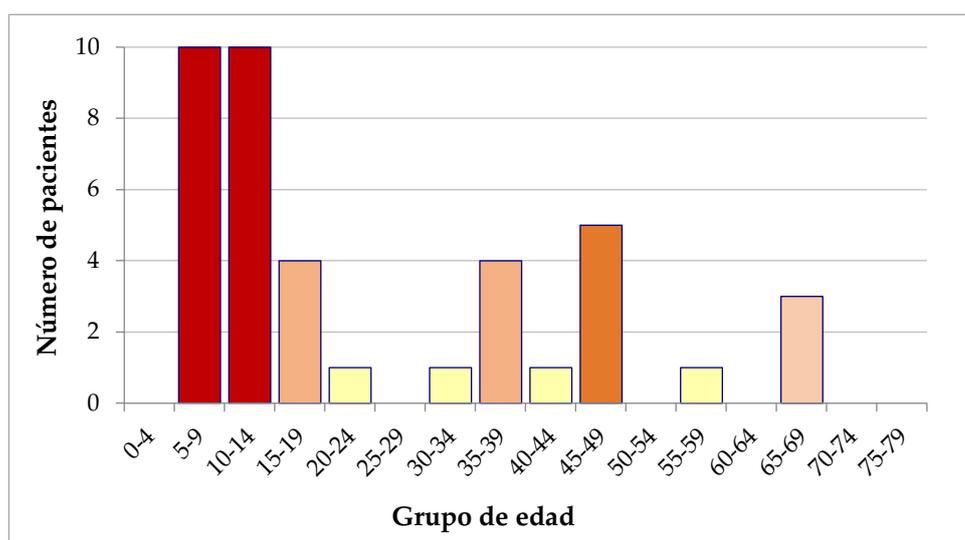


Figura 21. Coinfección por *E. vermicularis* por grupos de edad.

No se encontraron otras enfermedades subyacentes significativas, excepto en tres pacientes, que presentaban una coinfección por VIH, y un paciente que se encontraba trasplantado de hígado (por atresia de vías biliares).

4.2 SUBESTUDIO 1: Prevalencia de *Dientamoeba fragilis* en los contactos domiciliarios de pacientes infectados por *D. fragilis*. Descripción de las características diferenciales existentes entre contactos infectados y no infectados.

De los 105 casos índice diagnosticados de infección por *Dientamoeba fragilis* únicamente fue posible realizar el estudio de contactos a un total de 65, de modo que 40 pacientes fueron excluidos para este subestudio. Los motivos por los cuales no se pudo realizar el estudio de contactos fueron principalmente dos: ausencia de contactos o convivientes y negativa del paciente o de sus contactos para realizar el estudio.

En consecuencia, quedaron incluidos 65 casos iniciales de infección por *D. fragilis* y sus 120 contactos domiciliarios, de los cuales se diagnosticó de infección por *D. fragilis* a un total de 58 (48,33%) (Fig. 22).

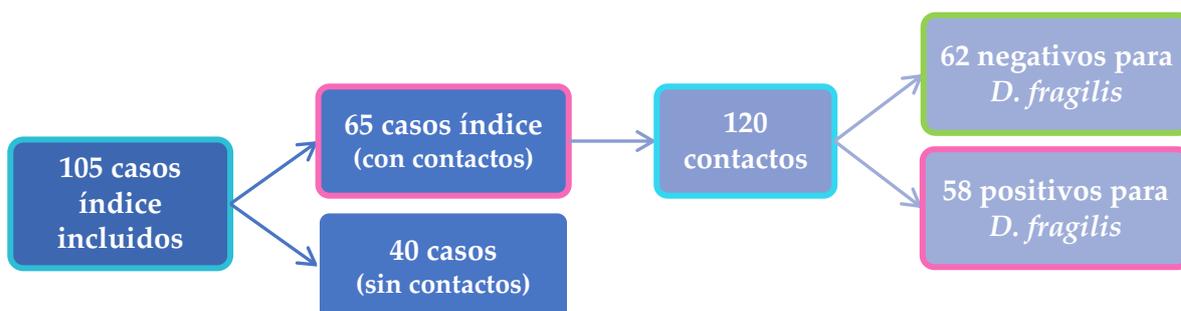


Figura 22. Distribución de los pacientes en el estudio de contactos.

De los 120 contactos estudiados, el 56,00% eran varones. La edad media fue de 35,22 [±18,80] años, con un rango entre 4 y 74 años, y un 22,50% eran niños de edad igual o inferior a 14 años.

Las características de los casos índice y de sus contactos se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Características de los casos índice y sus contactos.

Parámetros	Casos índice N= 65	Contactos N=120	p- valor	OR
Caract. demográficas:				
Sexo (Femenino %)	39 (60,00%)	54 (45,00%)	0,052	1,833 [0,993-3,384]
Edad (Media [DS])	33,58 [±18,44] (5-71)	35,22 [±18,80] (4-74)	0,492	-
Niños ≤ 14 años	12 (18,46%)	27 (22,50%)	0,522	0,780 [0,365-1,666]
Procedencia:				
Autóctono	33 (50,77%)	72 (60,00%)	0,227	0,688 [0,374-1,263]
Inmigrante	24 (36,92%)	36 (30,00%)	0,337	1,366 [0,722-2,583]
Viajero	8 (12,31%)	12 (10,00%)	0,632	1,263 [0,448-3,268]
Caract. epidemiológicas:				
Contacto con niños ≤ 14 años	32 (49,23%)	69 (57,50%)	0,281	0,717 [0,391-1,314]
Residencia en zona rural	19 (29,23%)	29 (24,17%)	0,454	1,296 [0,658-2,555]
Contacto con animales	11 (16,92%)	25 (20,83%)	0,522	0,774 [0,354-1,695]
Características clínicas:				
Asintomáticos	9 (13,85%)	83 (69,17%)	<0,001	0,072 [0,032-0,160]
Dolor abdominal	38 (58,46%)	21 (17,50%)	<0,001	6,635 [3,355-13,123]
Distensión abdominal	9 (13,85%)	7 (5,83%)	0,064	2,594 [0,919-7,328]
Diarrea aguda	6 (9,23%)	1 (0,83%)	0,008	12,102 [1,424-102,850]
Diarrea crónica	16 (24,62%)	5 (4,17%)	<0,001	7,510 [2,606-21,643]
Náuseas / vómitos	4 (6,15%)	1 (0,83%)	0,052	7,803 [0,854-71,344]
Ileitis/ colitis	2 (3,08%)	1 (0,83%)	0,553	3,778 [0,336-42,478]
Pérdida de peso	4 (6,15%)	1 (0,83%)	0,052	7,803 [0,854-71,344]
Fiebre	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1,000	1,840 [0,036-93,797]
Clínica cutánea	6 (9,23%)	2 (1,67%)	0,023	6,000 [1,175-30,641]
Prurito cutáneo	4 (6,15%)	2 (1,67%)	0,186	3,869 [0,689-21,721]
Prurito anal	5 (7,69%)	3 (2,50%)	0,131	3,250 [0,751-14,062]
Eosinofilia	24 (36,92%)	14 (11,67%)	<0,001	4,432 [2,091-9,395]
Cifra eosinófilos (cél/mm ³)	931,42 [±4344,82] (550-1600)	1533,71 [±1846,05] (600-7866)	0,180	-
Duración síntomas (días)	131,66 [±152,80] (5-730)	96,78 [±108,61] (5-365)	0,647	-
Caract. microbiológicas:				
<i>Dientamoeba fragilis</i>	65 (100,00%)	58 (48,33%)	<0,001	139,957 [8,470-2313,480]
<i>Enterobius vermicularis</i>	17 (26,15%)	21 (17,50%)	0,185	1,670 [0,808-3,452]
<i>E. vermicularis</i> en convivientes	19 (29,23%)	47 (39,17%)	0,179	0,642 [0,336-1,227]
<i>Blastocystis</i> spp.	13 (20,00%)	21 (17,50%)	0,671	1,179 [0,546-2,543]
<i>Entamoeba</i> spp.	4 (6,15%)	3 (2,50%)	0,243	2,557 [0,555-11,794]
<i>Strongyloides stercoralis</i>	8 (12,31%)	6 (5,00%)	0,086	2,667 [0,883-8,053]

La mayoría de los contactos eran población autóctona (60,00%), seguidos de los inmigrantes (30,00%). Un 10,00% de los contactos eran viajeros, de los cuales un 41,67% eran VFR. La estancia media en España de los inmigrantes desde su llegada hasta la consulta fue de 3067,31 [\pm 2184,00] días, con un rango entre 15 y 7466 días. En el caso de los viajeros, el tiempo medio transcurrido tras el viaje fue de 184,92 [\pm 143,03] días, con un rango entre 30 y 365 días.

Probablemente debido a condicionantes sociofamiliares, fue más factible realizar el estudio de contactos a los pacientes de procedencia autóctona en comparación con los otros 2 grupos (inmigrantes y viajeros), aunque sin diferencias estadísticamente significativas (comparando los tres grupos: $p=0,482$, y comparando los inmigrantes con los otros dos grupos: 72/33 frente a 48/32, $p=0,227$; OR 1,455 [0,792-3,672]).

Sesenta y nueve contactos (57,50%) describieron la presencia de niños de edad ≤ 14 años en el seno familiar, y 25 (20,83%) tenían contacto con animales domésticos. Veintinueve (24,17%) residían en zona rural.

En un total de cincuenta y ocho de los contactos (48,33%) se demostró la presencia de infección por *D. fragilis*.

Con respecto a las coinfecciones, 21 contactos (17,50%) presentaron una coinfección por *E. vermicularis* y 47 (39,17%) tenían algún miembro de la familia infectado por oxiuros. Veintiún individuos estaban infectados por *Blastocystis* spp., 6 por *Strongyloides stercoralis*, 3 por *Entamoeba* spp. y 1 por *Giardia intestinalis*.

Al comparar los controles con los casos índice, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación con: el sexo, la edad, la procedencia, la residencia en zona rural, la presencia de niños en la familia, el contacto con animales, o las coinfecciones por otros parásitos.

En cuanto a la sintomatología clínica, un 69,17% de los contactos se encontraban asintomáticos, frente a un 13,85% de los casos índice ($p<0,001$; OR

13,958 [6,250-31,172]), y entre aquellos que presentaban síntomas, los más frecuentes fueron el dolor y/o distensión abdominal y la diarrea crónica, aunque todos ellos en menor proporción que en los casos índice (Fig. 23).

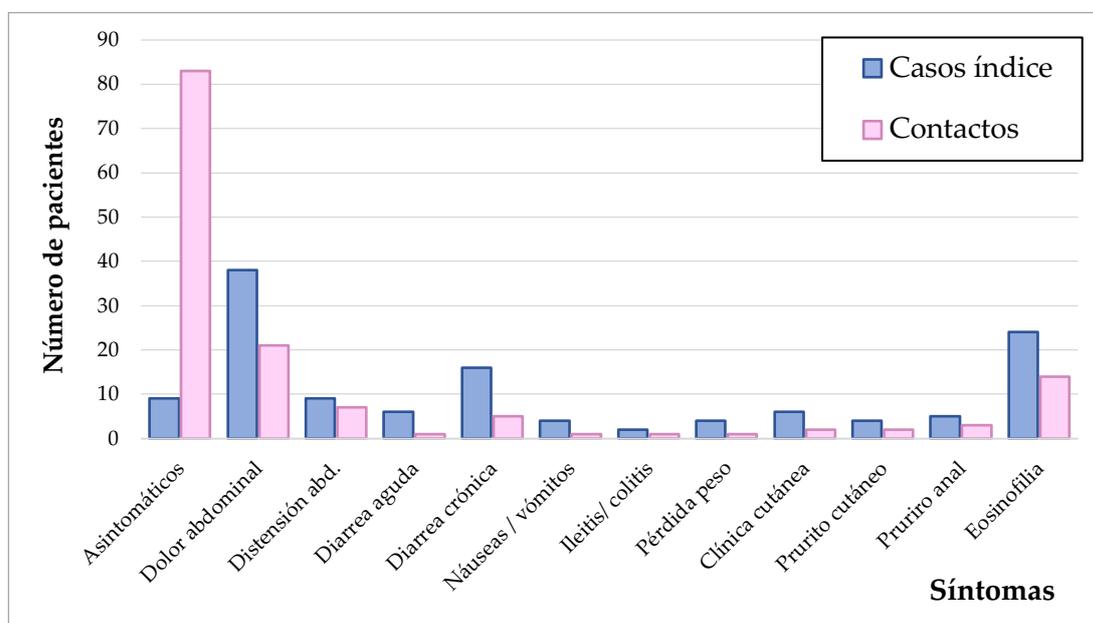


Figura 23. Frecuencia de cada uno de los síntomas en el grupo de casos índice y en el grupo de contactos.

El dolor abdominal, la diarrea aguda, la diarrea crónica, la clínica cutánea y la presencia de eosinofilia, fueron más frecuentes en el grupo de casos índice con resultados estadísticamente significativos:

- Dolor abdominal: $p < 0,001$; OR 6,635 [3,355-13,123]
- Diarrea aguda: $p = 0,008$; OR 12,102 [1,424-102,850]
- Diarrea crónica: $p < 0,001$; OR 7,510 [2,606-21,643]
- Clínica cutánea: $p = 0,023$; OR 6,000 [1,175-30,641]
- Eosinofilia: $p > 0,001$; OR 4,432 [2,091-9,395]

Como ya se ha señalado, cincuenta y ocho de los contactos (48,33%) tenían una PCR positiva para *D. fragilis*. En la tabla 12 se muestran las características comparativas entre los contactos infectados y no infectados.

Tabla 12. Características de los contactos infectados y no infectados por *D. fragilis*.

Parámetro	Contactos con <i>D. fragilis</i> (N=58)	Contactos sin <i>D. fragilis</i> (N=62)	p-valor	OR
Caract. demográficas:				
Sexo (Femenino %)	24 (41,38%)	30 (48,39%)	0,442	0,753 [0,366-1,550]
Edad (Media [DS])	32,12 [±20,28] (4-72)	38,11 [±16,96] (7-74)	0,111	-
Niños ≤ 14 años	20 (34,48%)	7 (11,29%)	0,002	4,135 [1,592-10,745]
Procedencia:				
Autóctono	39 (67,24%)	33 (53,23%)	0,118	1,804 [0,860-3,786]
Inmigrante	15 (25,86%)	21 (33,87%)	0,337	0,681 [0,310-1,499]
Viajero	4 (6,90%)	8 (12,90%)	0,273	0,500 [0,142-1,759]
Caract. epidemiológicas:				
Contacto con niños ≤ 14 años	40 (68,97%)	29 (46,77%)	0,014	2,529 [1,198-5,339]
Residencia en zona rural	21 (36,21%)	8 (12,90%)	0,003	3,831 [1,534-9,570]
Contacto con animales	15 (25,86%)	10 (16,13%)	0,190	1,814 [0,740-4,445]
Características clínicas:				
Asintomáticos	34 (58,62%)	49 (79,03%)	0,016	0,376 [0,168-0,840]
Dolor abdominal	13 (22,41%)	8 (12,90%)	0,170	1,950 [0,743-5,121]
Distensión abdominal	5 (8,62%)	2 (3,23%)	0,261	2,830 [0,527-15,200]
Diarrea aguda	0 (0,00%)	1 (1,61%)	1,000	0,350 [0,014-8,776]
Diarrea crónica	2 (3,45%)	3 (4,84%)	1,000	0,702 [0,113-4,362]
Náuseas / vómitos	1 (1,72%)	0 (0,00%)	0,483	3,261 [0,130-81,666]
Ileitis	1 (1,72%)	0 (0,00%)	0,483	3,261 [0,130-81,666]
Pérdida de peso	1 (1,72%)	0 (0,00%)	0,483	3,261 [0,130-81,666]
Fiebre	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1,000	1,068 [0,021-54,725]
Clínica cutánea	1 (1,72%)	1 (1,61%)	1,000	1,070 [0,065-17,516]
Prurito cutáneo	1 (1,72%)	1 (1,61%)	1,000	1,070 [0,065-17,516]
Prurito anal	3 (5,17%)	0 (0,00%)	0,110	7,883 [0,398-156,008]
Eosinofilia	10 (17,24%)	4 (6,45%)	0,089	3,021 [0,891-10,242]
Cifra eosinófilos (cél/mm ³)	1767,20 [±2167,16] (600-7866)	959 [±204,12] (700-1200)	0,304	-
Caract. microbiológicas:				
<i>Enterobius vermicularis</i>	21 (36,21%)	0 (0,00%)	<0,001	71,667 [4,217-1218,052]
<i>E. vermicularis</i> convivientes	30 (51,72%)	17 (27,42%)	0,006	2,836 [1,327-6,060]
<i>Blastocystis</i> spp.	9 (15,52%)	12 (19,35%)	0,578	0,765 [0,296-1,979]
<i>Entamoeba</i> spp.	1 (1,72%)	2 (3,23%)	1,000	0,526 [0,046-5,965]
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1 (1,72%)	5 (8,06%)	0,208	0,200 [0,023-1,766]

Al comparar los contactos infectados y no infectados no se observan diferencias en relación con el sexo ni con la edad, pero si en el porcentaje de niños con edad igual o inferior a 14 años, que resultó significativamente superior en los contactos infectados (p=0,002; 4,135 [1,592-10,745]) (Fig. 24).

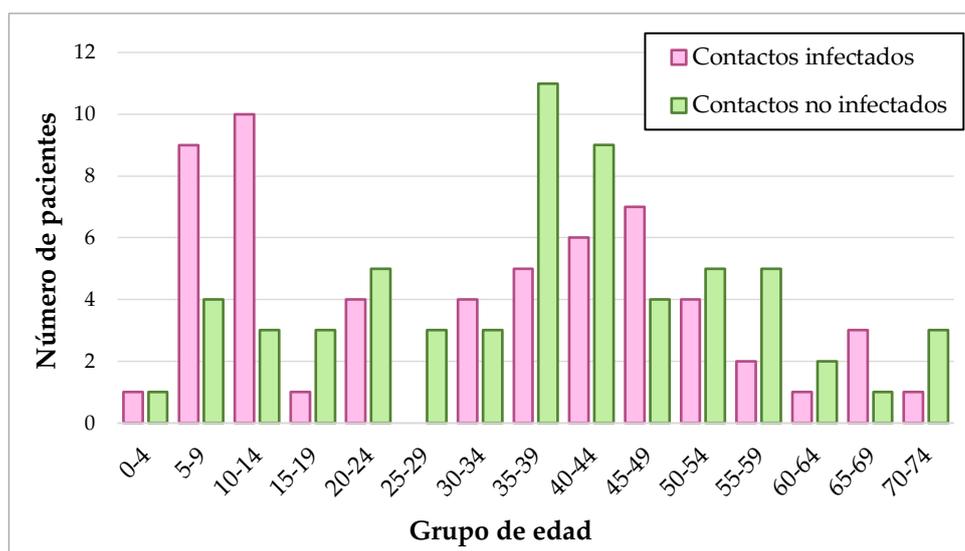


Figura 24. Distribución de contactos infectados y no infectados por grupos de edad.

Tampoco existe diferencia en relación con el origen de los pacientes pertenecientes al grupo de contactos infectados y no infectados. En el caso de los inmigrantes, el tiempo medio de estancia en España fue de 3562,37 [\pm 1229,85] (15-7300) para los contactos no infectados y de 2479,44 [\pm 2379,80] (98-7466) para los infectados, sin diferencias significativas ($p=0,142$).

Respecto a las antecedentes epidemiológicos, el contacto con niños, la residencia en zona rural y el contacto con animales fueron más frecuentes en el grupo de contactos infectados, resultando estadísticamente significativo en los dos primeros (contacto con niños: $p=0,014$; OR 2,529 [1,198-5,339] y residencia en zona rural: $p=0,003$; OR 3,831 [1,534-9,570]).

La presencia de síntomas en general, resultó más frecuente en los contactos infectados ($p=0,016$; OR 2,661 [1,190-5,947]).

Un 36,21% de los contactos infectados por *D. fragilis* estaban además coinfectados por *E. vermicularis*, no observándose ningún caso de coinfección en los contactos no infectados por *D. fragilis* (21/37 versus 0/62 $p<0,001$; OR 71,667 [4,217-1218,052]). También se observó una alta tasa de coinfección en el medio familiar (30/28 versus 17/41 $p=0,006$; OR 2,836 [1,327-6,060]).

4.3 SUBESTUDIO 2. Estudio comparativo de la eficacia de los tratamientos realizados e identificación de los posibles factores ligados al fracaso terapéutico.

Ciento cincuenta y cuatro pacientes (94,48%) recibieron tratamiento. De ellos 85 (55,19%) fueron tratados inicialmente con metronidazol y el resto (69 pacientes, 44,81%) con paromomicina. Las características de los pacientes tratados con cada uno de los dos fármacos se muestran en la tabla 13.

Los nueve pacientes restantes no recibieron tratamiento por dos motivos: porque no acudieron a la consulta de revisión tras ser diagnosticados, o bien, en el caso de mujeres embarazadas, porque se decidió posponer el tratamiento hasta después del parto.

De todos los pacientes incluidos en el estudio, uno de ellos acudió a la consulta ocho meses después de haber presentado en un estudio coproparasitario una PCR positiva para *D. fragilis*. Por este motivo se decidió solicitar una nueva determinación en la que no se evidenció la presencia de dicho parásito. Dado que el paciente negaba haber recibido tratamiento alguno, y que la sintomatología clínica había desaparecido, se asumió que se trataba de un caso de curación espontánea.

Comparando las características de los pacientes tratados con cada uno de los fármacos no hay diferencias significativas en el sexo, la edad o el país de origen entre los dos grupos, aunque la mayoría de los niños menores de 14 años se trataron con metronidazol ($p=0,007$; OR 3,178 [1,328-7,601]).

Once pacientes pertenecientes al grupo del metronidazol describieron náuseas durante el tratamiento y 4 pacientes tratados con paromomicina presentaron diarrea. Ambos síntomas fueron atribuidos al tratamiento dado que cesaron al finalizar los mismos.

Tabla 13. Características de los pacientes pertenecientes a cada grupo de tratamiento.

Parámetros	Metronidazol N=85	Paromomicina N= 69	p- valor	OR
Características demográficas:				
Sexo (Mujeres %)	44 (51,76%)	36 (52,17%)	1,000	0,984 [0,521-1,858]
Edad (Media [DS])	33,66 [±20,64] (4-72)	36,54 [±17,63] (9-77)	0,277	-
Niños menores de 14 años	25 (29,41%)	8 (11,59%)	0,007	3,178 [1,328-7,601]
Procedencia:				
Autóctono	47 (55,29%)	40 (57,97%)	0,740	0,897 [0,472-1,703]
Inmigrante	25 (29,41%)	20 (28,99%)	1,000	1,021 [0,508-2,053]
Viajero	13 (15,29%)	9 (13,04%)	0,689	1,204 [0,481-3,010]
Caract. epidemiológicas:				
Contacto con niños ≤ 14 años	50 (58,82%)	26 (37,68%)	0,009	2,363 [1,232-4,530]
Residencia en zona rural	36 (42,35%)	11 (15,94%)	<0,001	3,874 [1,785-8,408]
Contacto con animales	20 (23,53%)	11 (15,94%)	0,244	1,622 [0,717-3,671]
Características clínicas:				
Asintomáticos	29 (34,12%)	24 (34,78%)	0,920	0,971 [0,498-1,894]
Dolor abdominal	36 (42,35%)	22 (31,88%)	0,182	1,570 [0,810-3,050]
Distensión abdominal	8 (9,41%)	7 (10,14%)	0,862	0,920 [0,316-2,678]
Diarrea aguda	3 (3,52%)	7 (10,14%)	0,112	0,324 [0,081-1,304]
Diarrea crónica	11 (12,94%)	12 (17,39%)	0,442	0,816 [0,334-1,993]
Náuseas / vómitos	5 (5,88%)	2 (2,90%)	0,461	2,094 [0,394-11,141]
Ileitis/ colitis	2 (2,35%)	1 (1,45%)	1,000	1,639 [0,145-18,460]
Pérdida de peso	4 (4,71%)	4 (5,80%)	1,000	0,803 [0,193-3,333]
Fiebre	1 (1,18%)	1 (1,45%)	1,000	0,810 [0,050-13,183]
Clínica cutánea	5 (5,88%)	7 (10,14%)	0,327	0,554 [0,168-1,828]
Prurito cutáneo	4 (4,71%)	7 (10,14%)	0,221	0,437 [0,123-1,561]
Prurito anal	5 (5,88%)	4 (5,80%)	1,000	1,016 [0,262-3,937]
Eosinofilia	28 (32,94%)	14 (20,29%)	0,080	1,930 [0,920-4,048]
Cifra eosinófilos (cél/mm ³)	1027,36 [±1350,84] (550-7866)	1071,29 [±392,52] (530-1768)	0,607	-
Caract. microbiológicas:				
<i>Enterobius vermicularis</i>	31 (36,47%)	9 (13,04%)	0,001	3,827 [1,672-8,761]
<i>E. vermicularis</i> en convivientes	40 (47,06%)	10 (14,49%)	<0,001	5,244 [2,370-11,604]
<i>Blastocystis</i> spp.	9 (10,59%)	16 (23,19%)	0,035	0,392 [0,161-0,954]
<i>Entamoeba</i> spp.	2 (2,35%)	6 (8,70%)	0,141	0,253 [0,049-1,296]
<i>Strongyloides stercoralis</i>	6 (7,06%)	12 (17,39%)	0,047	0,361 [0,128-1,018]
Evolución:				
Curación clínica a las 4 sem.	77 (90,59%)	65 (94,20%)	0,597	0,592 [0,171-2,057]
Curación microbiológica a las 4 semanas.	75 (88,24%)	65 (94,20%)	0,317	0,462 [0,138-1,542]

Por otro lado, la presencia de coinfección por *E. vermicularis* fue significativamente mayor en el grupo de metronidazol, tanto en los pacientes incluidos del estudio ($p=0,001$; OR 3,827 [1,672-8,761]), como en sus convivientes ($p<0,001$; OR 5,244 [2,370-11,604]).

Ciento cuarenta pacientes (90,91%) evolucionaron hacia la curación con la primera línea de tratamiento. Comparando ambos tratamientos se observó una tasa de curación de 88,24% en los pacientes que recibieron metronidazol, frente a una tasa de 94,20% en el grupo de la paromomicina, sin diferencias significativas entre ambos tratamientos ($p=0,317$; OR 0,462 [0,138-1,542]).

Los pacientes que fracasaron con la primera línea de tratamiento recibieron una terapia de rescate con paromomicina, que se asoció a mebendazol, en aquellos casos en los se había objetivado la presencia de *E. vermicularis* en el paciente o en sus convivientes.

El 94,20% de los pacientes pertenecientes al grupo de la paromomicina mostraron una ausencia de síntomas y una negativización de los controles parasitológicos a las cuatro semanas. Por el contrario, 10 pacientes del grupo del metronidazol mostraron presencia de *D. fragilis* en heces a las cuatro semanas del tratamiento, pero únicamente 6 de ellos describieron la persistencia de síntomas en forma de distensión abdominal. Todos ellos se curaron tras una segunda línea de tratamiento con paromomicina.

No hay diferencias significativas en el sexo ($p=0,493$), edad ($p=0,945$) o lugar de procedencia entre los pacientes curados y no curados (Tabla 14). Tampoco se observaron diferencias en ninguna de las características clínicas entre ambos grupos (curados y no curados).

Tabla 14. Características diferenciales de los pacientes curados y no curados con la primera línea de tratamiento.

Parámetros	Curación N= 141	No curación N= 14	P- valor	OR
Caract. demográficas:				
Sexo (Femenino%)	74 (52,48%)	6 (42,86%)	0,493	1,473 [0,486-4,464]
Edad (Media [DS])	35,06 [±19,34] (4-77)	34,36 [±19,37] (11-66)	0,945	-
Niños menores de 14 años	29 (20,57%)	4 (28,57%)	0,499	0,647 [0,189-2,213]
Procedencia:				
Autóctono	77 (56,61%)	11 (78,57%)	0,149	0,328 [0,088-1,227]
Inmigrante	44 (31,21%)	1 (7,14%)	0,065	5,897 [0,748-46,497]
Viajero	20 (14,18%)	2 (14,29%)	1,000	0,992 [0,206-4,767]
Caract. epidemiológicas:				
Contacto niños ≤ 14 años	66 (46,81%)	10 (71,43%)	0,140	0,352 [0,105-1,176]
Residencia en zona rural	44 (21,21%)	4 (28,57%)	1,000	1,134 [0,337-3,815]
Contacto con animales	31 (21,99%)	0 (0,00%)	0,074	8,267 [0,480-142,476]
Características clínicas:				
Asintomáticos	50 (35,46%)	3 (21,43%)	0,383	2,015 [0,537-7,560]
Dolor abdominal	52 (36,88%)	7 (50,00%)	0,335	0,584 [0,194-1,759]
Distensión abdominal	15 (10,64%)	0 (0,00%)	0,364	3,553 [0,202-62,556]
Diarrea aguda	8 (5,67%)	2 (14,29%)	0,224	0,361 [0,069-1,895]
Diarrea crónica	22 (15,60%)	2 (14,29%)	1,000	1,109 [0,232-5,303]
Náuseas / vómitos	6 (4,26%)	1 (7,14%)	1,000	0,578 [0,065-5,174]
Ileitis	3 (2,13%)	0 (0,00%)	1,000	0,733 [0,036-14,901]
Pérdida de peso	6 (4,26%)	2 (14,29%)	0,155	0,267 [0,048-1,468]
Fiebre	2 (1,42%)	0 (0,00%)	1,000	0,520 [0,024-11,356]
Clínica cutánea	11 (7,80%)	1 (7,14%)	1,000	1,100 [0,131-9,211]
Prurito cutáneo	10 (7,09%)	1 (7,14%)	1,000	0,992 [0,118-8,378]
Prurito anal	7 (4,96%)	2 (14,29%)	0,189	0,313 [0,059-1,680]
Eosinofilia	38 (26,95%)	4 (28,57%)	1,000	0,922 [0,273-3,117]
Cifra eosinófilos (cél/mm ³)	1181,95 [±1172,14] (530-7866)	972,50 [±387,76] (600-1500)	1,000	-
Duración síntomas (días)	139,53 [±157,06] (4-730)	149,00 [±144,34] (10-365)	0,702	-
Caract. microbiológicas:				
<i>Enterobius vermicularis</i>	31 (21,99%)	9 (64,29%)	0,002	0,157 [0,049-0,501]
<i>E. vermicularis</i> convivientes	41 (29,08%)	9 (64,29%)	0,013	0,228 [0,072-0,721]
<i>Blastocystis</i> spp.	24 (17,02%)	1 (7,14%)	0,470	2,667 [0,333-21,364]
<i>Entamoeba</i> spp.	8 (5,67%)	1 (7,14%)	1,000	0,782 [0,091-6,750]
<i>Strongyloides stercoralis</i>	17 (12,06%)	1 (7,14%)	0,706	1,782 [0,219-14,499]
Tratamiento:				
Metronidazol	75 (53,19%)	10 (71,43%)	0,306	0,455 [0,136-1,518]
Paromomicina	65 (46,1%)	4 (28,57%)	0,330	2,138 [0,640-7,141]

El fracaso terapéutico se asoció significativamente con la coinfección por *E. vermicularis* (9/5 versus 31/110; $p=0,002$; OR 6,387 [1,995-20,448]), así como con la presencia del mismo en la familia (9/5 versus 41/100, $p=0,013$; OR 4,390 [1,387-13,984]). Sin embargo, no se relacionó con el tratamiento con metronidazol ($p=0,306$; OR 0,455 [0,136-1,518]) (Fig. 25).

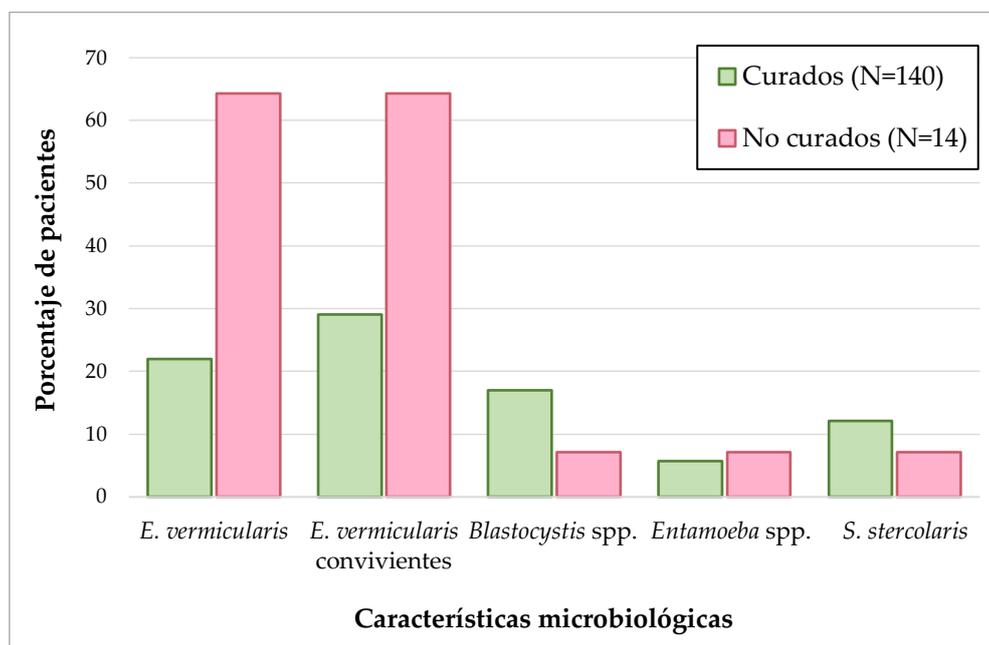


Figura 25. Características microbiológicas de los pacientes curados y no curados.

El análisis multivariable no demostró la existencia de ninguna variable relacionada con el fracaso terapéutico.

4.4 SUBESTUDIO 3. Estudio comparativo de casos y controles sanos, con el fin de analizar más adecuadamente los factores de riesgo y el papel patógeno de *Dientamoeba fragilis*.

Del total de pacientes diagnosticados de infección por *Dientamoeba fragilis* únicamente fue posible encontrar controles que cumplieran los requisitos del estudio en 91 de ellos. Las características de ambos grupos de pacientes (casos y controles) se muestran en la tabla 15.

Tabla 15. Características de los casos y controles incluidos en el estudio.

Parámetros	Casos N= 91	Controles N= 91	P- valor	OR
Caract. demográficas:				
Sexo (Femenino%)	56 (61,54%)	56 (61,54%)	1,000	1,000 [0,550-1,817]
Edad (Media [DS])	39,16 [±17,01] (7-77)	39,19 [±16,93] (7-75)	0,966	-
Caract. epidemiológicas:				
Contacto niños ≤ 14 años	38 (40,66%)	14 (26,37%)	<0,001	3,943 [1,947-7,986]
Residencia en zona rural	27 (29,67%)	2 (2,20%)	<0,001	18,773 [4,309-81,799]
Contacto con animales	15 (16,48%)	8 (8,79%)	0,118	2,048 [0,822-5,101]
Antecedente de viaje	11 (12,09%)	15 (16,48%)	0,396	0,697 [0,301-1,612]
Características clínicas:				
Asintomáticos	30 (32,97%)	51 (56,04%)	0,002	0,242 [0,130-0,449]
Dolor abdominal	31 (34,07%)	11 (12,09%)	<0,001	3,757 [1,749-8,075]
Distensión abdominal	9 (9,89%)	3 (3,30%)	0,141	3,181 [0,832-12,155]
Diarrea aguda	4 (4,40%)	6 (6,60%)	0,740	0,651 [0,178-2,390]
Diarrea crónica	16 (17,58%)	3 (3,30%)	0,004	6,258 [1,756-22,306]
Náuseas / vómitos	2 (2,20%)	3 (3,30%)	1,000	0,659 [0,108-4,041]
Ileitis/ colitis	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1,000	1,000 [0,020-50,924]
Pérdida de peso	3 (3,30%)	1 (1,10%)	0,621	3,068 [0,313-30,063]
Fiebre	0 (0,00%)	2 (2,20%)	0,497	0,196 [0,009-4,132]
Clínica cutánea	6 (6,60%)	9 (9,89%)	0,420	0,643 [0,219-1,888]
Prurito cutáneo	4 (4,40%)	3 (3,30%)	1,000	1,349 [0,293-6,204]
Prurito anal	6 (6,60%)	3 (3,30%)	0,497	2,071 [0,502-8,546]

En relación a las características demográficas, existe un predominio de pacientes del sexo femenino (61,54%) con una edad media de 39,16 [\pm 17,01] años (rango 7-77 años) los casos, y de 39,19 [\pm 16,93] años (rango 7-75 años), los controles.

En cuanto a la procedencia de los individuos incluidos en el estudio, un 75,82% eran españoles, 10,99% procedían de Guinea Ecuatorial, 9,89% de Ecuador y el resto de Senegal, Paraguay y Colombia (1,10% respectivamente). El tiempo de permanencia en España de los pacientes inmigrantes fue superior en el grupo de casos (2630,64 [\pm 1985,85] días, límites 4-6884 días), que en el grupo control (104,03 [\pm 61,25] días, límites 5-204 días), con resultados estadísticamente significativos ($p < 0,001$).

Con respecto a los antecedentes epidemiológicos, el 29,67% de los casos residía en zona rural frente a sólo un 2,20% de los controles ($p < 0,001$; OR 18,773 [4,309-81,799]). En el grupo de casos, 38 tenían contacto con niños de edad ≤ 14 años, frente a 14 de los controles ($p < 0,001$; OR 3,943 [1,947-7,986]).

Quince de los casos (16,48%) habían tenido contacto con animales (principalmente gatos, perros y en menor medida animales de granja), frente a 8 individuos del grupo control ($p = 0,118$; OR 2,048 [0,882-5,101]).

Once de los casos (12,09%) habían viajado fuera de España, 3 de ellos a Tailandia, 2 a Guinea Ecuatorial, 2 a Senegal, y los restantes a Bolivia, Tanzania, Brasil, y China (1 caso cada uno). En el grupo control 14 casos habían viajado siendo los destinos: Guinea Ecuatorial (2 casos), Bangladesh (2 casos) y los restantes: Camerún, Costa Rica, Cuba, Etiopía, Filipinas, Guadalupe, Guatemala, Liberia, Mozambique y República Dominicana (1 caso cada uno), sin diferencias significativas entre ambos grupos ($p = 0,396$). El tiempo transcurrido entre el viaje y la consulta fue de 72,90 [\pm 105,62] días (rango: 10-365) en el grupo de casos y de 42,08 [\pm 41,16] días (rango: 3-120), en el grupo de controles ($p = 0,418$).

El análisis multivariante mostró significación estadística tanto para el contacto con niños ≤ 14 años ($p < 0,001$) como para la residencia en zona rural ($p < 0,001$).

En el grupo de casos se observaron un total de 49 coinfecciones: *Enterobius vermicularis* (18,68%), *Blastocystis* spp. (18,68%), *Strongyloides stercoralis* (10,99%) y *Entamoeba* spp. (5,49%).

En cuanto a la clínica referida por los pacientes, un 56,04% de los controles se encontraban asintomáticos frente al 32,97% de los casos. El síntoma más frecuente fue el dolor abdominal presente en un 34,07% de los casos frente a sólo un 12,09% de los controles, seguido de la diarrea crónica (17,58% en el grupo de casos y 3,30% en el grupo de controles) y la distensión abdominal (9,89% frente a 3,30%).

La duración media de los síntomas fue de 398,00 [$\pm 94,51$] días (límites: 15-398) en el grupo de casos frente a 90,00 [$\pm 43,33$] días (límites: 0-90) en el grupo de controles, sin observarse diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p = 0,320$).

No se encontraron diferencias en la presencia de síntomas con respecto al sexo, la edad, la procedencia de los pacientes o el antecedente de viaje. El análisis estadístico univariable mostró significación estadística en la presencia de dolor abdominal ($p < 0,001$; OR 3,757 [1,749-8,075]), diarrea crónica ($p = 0,004$; OR 6,258 [1,756-22,306]), y presencia de síntomas en general ($p = 0,002$; OR 2,593 [1,420-4,733]). Sin embargo, el análisis multivariante únicamente confirmó la asociación estadística con la presencia de síntomas en general ($p = 0,020$), pero no con ningún síntoma en particular.

5. DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

Un siglo después de su descubrimiento, *D. fragilis* continúa siendo un protozoo con muchas cuestiones aún sin responder (1,10,16). Sus diferentes morfologías y el papel de cada una de ellas, su ciclo vital y mecanismo de transmisión, su patogenicidad y el tratamiento de elección, continúan siendo una incógnita.

A pesar de todo ello, la mayoría de autores coinciden en que es un protozoo patógeno (2-5,8,16,20,103), muy prevalente en nuestro medio (79,80,83,85,87,90) y responsable de sintomatología clínica diversa, sobre todo digestiva.

5.1 PREVALENCIA Y EPIDEMIOLOGÍA.

Tal y como se ha descrito en la introducción las tasas de prevalencia observadas en los diferentes estudios son muy variables en función de la población analizada, pero sobre todo de la sensibilidad del método diagnóstico empleado. Aquellos estudios en los que se emplea la PCR para su identificación arrojan prevalencias más elevadas, que en países desarrollados oscilan entre un 5% (27,63) y más de un 70% (87). En nuestro país únicamente existen dos estudios que describen la prevalencia de *D. fragilis*, ambos empleando como método diagnóstico la microscopía; el primero de ellos, realizado por González-Moreno *et al.* (63) describen una prevalencia de 1,60% (en un total de 8313 pacientes analizados de todos los grupos de edad), y el segundo estudio, llevado a cabo por Burgaña *et al.* (57), describen una prevalencia superior: 8,20% (de un total de 13983 muestras, con una edad media de 12 años y un rango intercuartílico de 6-40 años). En ambos casos la prevalencia es inferior a la encontrada en nuestro estudio (892 individuos estudiados en total, prevalencia 18,27%) debido, probablemente, al hecho de utilizar como método diagnóstico la reacción en cadena de la polimerasa, cuya sensibilidad,

como ya se ha descrito con detalle, es muy superior a la microscopía. Sin embargo, se aproxima más a otros estudios que utilizan también la PCR como método diagnóstico, y que se han realizado en países próximos al nuestro, como es el caso de los trabajos realizados por Clemente *et al.* (81) y Calderaro *et al.* (80) en Italia, en los que describen prevalencias de 14,78% y 21,40% respectivamente.

La diferencia de prevalencia tan notable entre ambas técnicas diagnósticas pone de manifiesto el riesgo de infradiagnosticar las infecciones por *D. fragilis*, con las consecuencias que ello puede acarrear, tanto para el paciente, por la persistencia de los síntomas, como para el sistema sanitario, por el aumento de costes derivado de la realización de estudios complementarios, a menudo invasivos, y del paso por diversos niveles asistenciales, con el fin de llegar a un diagnóstico. Aunque las pruebas de diagnóstico molecular, basadas en la detección de ácidos nucleicos, parecían reservadas a laboratorios de tercer nivel o incluso de investigación, el desarrollo experimentado en los últimos años, al haber demostrado su gran sensibilidad y especificidad, ha favorecido su comercialización, poniendo estos métodos diagnósticos al alcance de prácticamente cualquier tipo de laboratorio.

En relación con la influencia de la edad y el sexo en la incidencia de la infección por *D. fragilis* los resultados reflejados en los diferentes estudios son variables. La mayoría de autores describen prevalencias de *D. fragilis* más elevadas en el sexo femenino. Röser *et al.* (90) describieron un riesgo de infección por *D. fragilis* más elevado en mujeres con una *odds ratio* de 1,10, únicamente significativo en adultos en edad parental. Cerva *et al.* (96) analizaron 414 muestras procedentes de apéndices, y concluyeron que *D. fragilis* es más frecuente en edades comprendidas entre los 11 y 15 años y 3 veces más frecuente en mujeres. Norberg *et al.* (94) describen una superioridad del sexo masculino en niños menores de 10 años. Lagance-Wines *et al.* (3) encontraron una predominancia del sexo masculino entre pacientes de 16 a 20 años. Dentro de la muestra incluida en nuestro estudio,

observamos de forma global una ligera superioridad del sexo femenino, siendo un 53,37% de los pacientes analizados mujeres, con un ratio varón/mujer 1/1,14.

En cuanto a la edad, la mayor parte de los estudios realizados coinciden en que la mayor prevalencia es la observada en la población pediátrica. En el estudio de prevalencia realizado en España por González-Moreno *et al.* (63), 72 de los 131 pacientes diagnosticados de infección por *D. fragilis* (57,6%) eran niños menores de 12 años. Girginkardesler *et al.* (62) y Yang *et al.* (39) describen la mayoría de los casos en niños menores de 14 años. Otros autores, sin embargo, describen dos picos de incidencia, uno principal, en niños, y otro en adultos jóvenes. Stark *et al.* (2) describen una elevada tasa de infecciones en niños menores de 10 años y en adultos entre 41 y 60 años. Norberg *et al.* (94) estudiaron 87 pacientes con infección por *D. fragilis*, describiendo 2 picos de incidencia: uno en niños menores de 10 años y otro en adultos entre 31 y 40 años, hecho que hemos corroborado en nuestros pacientes.

El principal motivo del primer pico de incidencia, correspondiente a la edad pediátrica, podría ser la coinfección por *E. vermicularis*, muy frecuente en este grupo de edad. El segundo pico, observado en adultos jóvenes, correspondería a los adultos en edad parental encargados del cuidado y atención de los niños infectados. En relación con esto, hemos observado, al igual que Norberg *et al.* (94) y Lagacé-Wines *et al.* (3) que en edad pediátrica hay un predominio de pacientes de sexo masculino (61,76% de los pacientes de edad ≤ 14 años eran varones), mientras que en edad parental predominan los pacientes de sexo femenino, como así describieron Röser *et al.* (90). Este hecho podría deberse a que, por cuestiones culturales, sobre todo en algunos grupos de población, las madres se encuentran más implicadas en los cuidados directos de los menores.

Tampoco existe consenso acerca de la existencia de un patrón estacional. Röser *et al.* (90) describen una mayor incidencia en otoño e invierno y Schure *et al.* (97) únicamente en invierno. Sin embargo, Grendon *et al.* (95) describen una prevalencia más elevada en primavera y verano. En nuestro caso hemos observado

dos picos de incidencia a lo largo del año: uno de ellos en los meses de mayo-junio (primavera), y el otro en los meses de noviembre-diciembre (otoño), así como un claro descenso de en los meses de verano. Esta menor incidencia durante el verano quizás se deba a que en estos meses el grupo de edad en el que se ha observado la mayor incidencia, los niños, no acuden al colegio, motivo por el cual tienen un menor contacto con otros niños, y con ello un menor riesgo de infectarse.

5.2 FACTORES DE RIESGO.

Se han estudiado múltiples factores de riesgo que podrían estar relacionados con la infección por *D. fragilis*, muchos de los cuales no han podido ser demostrados. Algunos ejemplos son el contacto con animales, el antecedente de viajes o la inmunosupresión. Otros, como la presencia de *D. fragilis* en contactos domiciliarios, o la coinfección por *E. vermicularis*, no sólo han demostrado ser factores de riesgo, sino que, parecen jugar un papel importante en la transmisión de este protozoo. La tabla 16 muestra los factores de riesgo para la infección por *D. fragilis* que han sido identificados en los diferentes trabajos.

En el caso de *E. vermicularis*, son muchos los estudios que establecen su estrecha relación con la infección por *D. fragilis* (38), actuando como vector de transmisión y/o como factor de riesgo en sí mismo. En cuanto al papel de *E. vermicularis* como vector, se han postulado dos teorías, bien que los oxiuros sean capaces de albergar los trofozoitos de *D. fragilis* en su interior o bien que los transporten en su superficie. Burrows *et al.* (36) fueron los primeros en describir este mecanismo de transmisión en 1956, y posteriormente esta hipótesis ha sido probada mediante estudios de biología molecular, de modo que tanto Ögren *et al.* (31) como Röser *et al.* (34) han demostrado la presencia de ADN de *D. fragilis* en huevos de *E. vermicularis*. Aunque podría sostenerse que la relación entre ambos patógenos es casual y obedece únicamente al hecho de que comparten un mismo mecanismo de transmisión (fecal-oral), y afectan de forma predominante a un mismo grupo de

edad (individuos en edad escolar), se ha demostrado que es mucho más sólida. Yang *et al.* (39) observaron en 1977 que la coinfección por *E. vermicularis* tiene una frecuencia 9 veces mayor de la que cabría esperar por el azar en pacientes infectados por *D. fragilis*. Girginkardeşer *et al.* (33) analizaron el papel de *E. vermicularis* en la transmisión de *D. fragilis*, mediante un estudio en el que compararon dos grupos de pacientes; el primero con infección por *E. vermicularis* (N=187) y el segundo con infección por *D. fragilis* (N=126). Encontraron que el 9,6% de los pacientes pertenecientes al primer grupo estaban coinfectados por *D. fragilis*, mientras que el porcentaje de coinfección por oxiuros en el segundo grupo (aquellos infectados por *D. fragilis*) era del 25,4%. Este porcentaje es similar al que hemos observado en nuestro estudio, en el cual la prevalencia de coinfección por *E. vermicularis* en pacientes diagnosticados de infección por *D. fragilis* ha resultado ser de 24,54%, lo que supone la afectación de cerca de 1 de cada 4 pacientes.

Nuestro estudio además demostró que la presencia de *E. vermicularis* era muy frecuente también dentro del grupo familiar (30,67%), apoyando nuevamente la estrecha relación entre ambos. Estos datos son extrapolables a los presentados por los contactos de los pacientes índice, en los que los infectados por *D. fragilis*, mostraban también tasas de coinfección por *E. vermicularis* muy superiores (36,21%) a las de los contactos no infectados (0 casos), tanto a nivel individual como dentro del núcleo familiar (51,72% en los infectados versus 27,42% en los no infectados, $p=0,006$). Esta singular relación entre ambos patógenos, podría ser la responsable de que la transmisión de *D. fragilis* resulte más eficiente, dada la capacidad de los huevos de *E. vermicularis* de permanecer de forma prolongada en el ambiente, incluso ante condiciones adversas, lo que favorecería la supervivencia del citado protozoo.

Esta estrecha relación queda puesta también de manifiesto en la comparación realizada con nuestro grupo control. Es llamativo que mientras en el grupo de casos

diecisiete pacientes (18,68%) se encontraban coinfectados por *E. vermicularis*, en el grupo control no encontramos ninguno ($p < 0,001$, OR 37,899 [2,244-640,100]).

Estos datos, todos ellos con resultados estadísticamente significativos, muestran el protagonismo de *E. vermicularis* en la infección por *D. fragilis*, no sólo como factor de riesgo, hecho demostrado por la alta tasa de coinfecciones en comparación con el grupo control, sino como potencial vector de transmisión.

Tabla 16. Factores de riesgo para la infección por *D. fragilis* identificados en los diferentes estudios.

<i>Referencia</i>	<i>Factores de riesgo</i>
Osman et al. (89)	-Nivel socio-económico bajo: $p=0,23$ -Contacto con animales: $p=0,80$ -Consumo de frutas y verduras crudas: $p=0,39$ -Convivientes con síntomas gastrointestinales: $p=0,01$; OR 2,2 [1,2-3,9]
Stark et al. (42)	Estudio de <i>D. fragilis</i> en múltiples muestras: -Muestras de mascotas positivas: 0/40 -Muestras procedentes del suelo: 0/8 -Muestras de aguas (ríos, lagos, lluvia...): 0/85 -Muestras de aguas tratadas: 0/3 -Muestras de aguas no tratadas: 1/4 (25%) -Muestras de convivientes positivas para <i>D. fragilis</i>: 10/30 (33,33%)
Engsbro et al. (99)	-Número de convivientes: $p=0,0001$; OR 1,89 [1,34-2,68] -Presencia de niños 5-18 años: $p < 0,0001$; OR 2,29 [1,49-3,51] -Muestras de suministro de agua: $p=0,09$
Boer et al. (111)	-Antecedente de viaje: $p < 0,001$ -Convivientes con síntomas gastrointestinales: $p < 0,001$ -Uso de antiácidos: $p < 0,001$ -Uso de antibióticos: $p < 0,001$
Menéndez et al.	-Contacto con niños ≤ 14 años: $p=0,014$; OR 2,529 [1,198-5,339] -Residencia en zona rural: $p=0,003$; OR 3,831 [1,534-9,570] -Contacto con animales: $p=0,190$ -Coinfección por <i>E. vermicularis</i>: $p < 0,001$; OR 71,667 [4,217-1218,052] -<i>E. vermicularis</i> en convivientes: $p=0,006$; OR 2,836 [1,327-6,060]

La presencia de *D. fragilis* dentro del núcleo familiar ha sido considerada también un factor de riesgo para la adquisición de la infección (40,42,69,89,99,110,111). Osman *et al.* (89) llevaron a cabo un estudio en 249 niños, describiendo la presencia de *D. fragilis* en un 60,6% de ellos, e identificando como único factor de riesgo la presencia de convivientes con síntomas gastrointestinales $p=0,01$; OR 2,2 [1,2-3,9]).

Diversos estudios describen prevalencias elevadas tanto en el ambiente doméstico como en comunidades cerradas. Millet *et al.* (40,69) estudiaron la presencia de parásitos intestinales en dos grupos semicomunales en Los Ángeles. El primero de ellos formado por 81 individuos adultos, describiendo una prevalencia de infección por *D. fragilis* de 41%, y el segundo, formado por individuos de todas las edades (N=220), con una prevalencia de 52,27%. Dada la elevada prevalencia observada, y que estos grupos semicomunales en ocasiones realizan reuniones abiertas al público, los autores describen la propagación de la infección por *D. fragilis* como un “problema potencial de salud pública”. Más recientemente, Stark *et al.* (42) describieron tasas de infección en contactos domiciliarios de pacientes con *D. fragilis* de un 33,33%. En nuestro estudio observamos una prevalencia de *D. fragilis* en convivientes del 48,33%, similar a la encontrada en los trabajos anteriores, con un elevado porcentaje de pacientes asintomáticos (69,17%), que podrían actuar como portadores, contribuyendo a la transmisión y mantenimiento de la infección dentro del núcleo familiar.

Las razones por las cuales unos contactos se infectan y otros no, aún no han sido descritas en la literatura. Millet *et al.* (40,69) atribuyen la elevada prevalencia de *D. fragilis* observada en los 2 grupos semicomunales analizados, al estilo de vida de estos pacientes unido a una higiene deficiente. Stark *et al.* (42,43), no identificaron ningún factor de riesgo para la infección, y atribuyen este hecho únicamente a la transmisión persona-persona en un contexto de malas condiciones higiénicas. En nuestro estudio identificamos como factores de riesgo para la infección en los

contactos los mismos que en la población general: el contacto con niños de edad \leq 14 años ($p=0,014$; OR 2,529 [1,198-5,339]), la residencia en zona rural ($p=0,003$; OR 3,831 [1,534-9,470]) y, como se ha señalado, la coinfección por *E. vermicularis* ($p<0,001$; OR 71,667 [4,217-1218,052]).

La elevada prevalencia de *D. fragilis* en convivientes de pacientes inicialmente diagnosticados, a menudo asintomáticos, es la causa de que algunos autores defiendan el cribado sistemático de los contactos o convivientes de los pacientes infectados, como así hemos realizado en nuestro estudio. Gracias a este cribado pueden ser tratados todos los individuos del núcleo familiar infectados por *D. fragilis*, lográndose erradicar la infección del domicilio, hecho que contribuye a disminuir el riesgo de reinfecciones y con ello al éxito terapéutico.

Respecto al incumplimiento de las medidas higiénico-dietéticas habituales en este tipo de patógenos es difícil de justificar en nuestro caso. La mayoría de nuestros pacientes residían en núcleos urbanos, eran de clase media, e incluso la población inmigrante llevaba muchos años en España y estaba perfectamente arraigada. Aunque la transmisión fecal-oral parece la más probable, dentro del ámbito familiar, al menos, es difícil pensar que medidas higiénicas deficientes tengan peso dentro de nuestra población. En nuestro caso es llamativo que los infectados tuvieran significativamente más contacto con menores de 14 años. Es probable que los niños, más proclives a tener contacto con el suelo y en los que es más difícil asegurar un lavado de manos adecuado, actúen como factor favorecedor de infección.

Precisamente el contacto con niños ha sido señalado por diversos autores como un factor de riesgo importante a la hora de contraer la infección. Como se ha señalado con anterioridad, múltiples estudios describen la alta prevalencia tanto de *D. fragilis* como de *E. vermicularis* en edad pediátrica, convirtiendo a este grupo de edad en un importante reservorio para la infección. Ensbro *et al.* (99), realizaron un estudio en 143 pacientes diagnosticados de síndrome de intestino irritable,

identificando *D. fragilis* como el protozoo intestinal más frecuente (prevalencia 35%), y demostrando la presencia de niños de 5-18 años como principal factor de riesgo para la infección por *D. fragilis* en adultos ($p < 0,0001$, OR 2,29 [1,49-3,51]).

En nuestro caso, el contacto con niños demostró ser un factor de riesgo tanto en comparación con el grupo control ($p < 0,001$; OR 3,943 [1,947-7,986], como en el estudio de contactos, en el cual la presencia de niños en el núcleo familiar se asoció significativamente con el desarrollo de infección por *D. fragilis* ($p = 0,014$; OR 2,529 [1,198-5,339]). Probablemente el contacto con niños aumente el riesgo de infección por *D. fragilis* por sí mismo, ya que como hemos comentado es más difícil asegurar unas estrictas medidas higiénicas en este grupo de población. Pero también es de reseñar que entre los niños es mucho más frecuente la infección por *E. vermicularis*. Ambos factores convierten a este grupo de población en un importante reservorio para la infección.

En cuanto al contacto con animales, se ha descrito la presencia de *D. fragilis* en múltiples especies, incluyendo animales salvajes, animales de granja y mascotas (42,53). En 2012, Stark *et al.* (42) estudiaron muestras procedentes de gatos, perros, pájaros y cerdos, sin identificar la presencia de *D. fragilis* en ninguna de ellas. Más recientemente, Chan *et al.* (53) examinaron un total de 420 muestras de animales, incluyendo caballos, gatos, perros y cerdos entre otros, y detectaron *D. fragilis* mediante PCR únicamente en un perro y en un gato. La baja prevalencia (menor de 1%) de *D. fragilis* en los animales evaluados en estos estudios (44) contrasta con la alta prevalencia observada en humanos, no pudiendo descartarse la posibilidad de que se trate de una zoonosis inversa.

Con respecto a nuestros resultados, no se demostró que el contacto con animales actúe como factor de riesgo, ni en el estudio de casos y controles ($p = 0,118$), ni en el estudio de contactos ($p = 0,190$). El estudio de los animales excedía los objetivos del actual trabajo, pero fue posible analizar muestras de heces procedentes de varios animales de granja (caballos y ovejas) y mascotas (gato y perro)

pertenecientes a una familia en la que sus miembros fueron diagnosticados de infección por *D. fragilis*, sin objetivarse que estuvieran infectados. No obstante, los datos recogidos en animales deben ser tomados en cuenta con precaución, dada la posibilidad de obtener resultados falsos positivos por la reacción cruzada con otras tricomonas presentes en ellos.

Otro factor de riesgo que también actuaría como mecanismo posible de transmisión, y que ha sido descrito para otros muchos patógenos, es el consumo de aguas contaminadas. Stark *et al.* (42) llevaron a cabo un estudio en el que analizaron muestras ambientales, entre ellas de agua: 50 muestras de agua de consumo, 15 de agua de lagos, 10 muestras de agua de estanque, 10 de agua de río, 3 muestras de aguas residuales tratadas y 4 de aguas residuales no tratadas. Únicamente lograron demostrar la presencia de *D. fragilis* en una de las muestras de aguas residuales no tratadas. Sin embargo, un trabajo recientemente publicado (44), describe por primera vez un brote de infección por *D. fragilis* tras la rotura y consiguiente contaminación de una tubería de agua. En una de las familias incluidas en nuestro estudio e infectadas por *D. fragilis*, fue posible analizar un tanque de agua que tenían en su vivienda, demostrándose la presencia de dicho protozoo. Esta forma de transmisión ha sido escasamente estudiada hasta la fecha, pero teniendo en cuenta la alta prevalencia de *D. fragilis* observada, quizás sea un mecanismo interesante a considerar.

Un factor de riesgo, que no ha sido analizado con profundidad en la literatura hasta la fecha, pero que hemos identificado en nuestro estudio, es la residencia en zona rural. En el estudio de casos y controles se observó de forma significativa un mayor porcentaje de pacientes residentes en zona rural dentro del grupo de casos (29,67%) con respecto al grupo control (2,20%, $p < 0,001$). Este dato se confirmó en nuestro estudio de contactos, donde aquellos que residían en zona rural presentaron tasas de infección significativamente superiores frente a los que no (36,21% frente a 12,90%; $p = 0,003$; OR 3,831 [1,534-9,570]). Muchos de los pacientes

residentes en zona rural referían trabajar a menudo la tierra sin guantes ni protección de ningún tipo. Este hecho ha demostrado ser un factor de riesgo para otros patógenos como *S. stercoraris* (nematodo), pero no para ningún protozoo. Sin embargo, si consideramos la existencia de quistes de *D. fragilis*, cuya supervivencia en superficies es mucho más probable que en el caso de los trofozoitos, el antecedente de contacto con el suelo sin protección podría constituir un factor de riesgo para la infección.

Con respecto al antecedente de viajes, un 63% de los pacientes diagnosticados de infección por *D. fragilis* en un estudio llevado a cabo por Norberg *et al.* (94) tenían antecedentes de viajes a África, América del Sur y Oriente Medio. Stark *et al.* (75) estudiaron a sesenta pacientes infectados con *D. fragilis* y encontraron que seis (10%) tenían antecedentes de viajes recientes al extranjero; tres al sudeste de Asia, uno a Timor, uno a Fiji y uno a Papúa Nueva Guinea. Estos mismos autores, años más tarde postularon que la infección por *Dientamoeba fragilis* es una de las causas de diarrea del viajero (100), reportando 7 casos de pacientes con diarrea y antecedente de viaje. Cuffari *et al.* (101) observaron el antecedente de viaje en siete de once niños estudiados por infección por *D. fragilis*.

En nuestro estudio 23 pacientes referían haber viajado en el año previo a la consulta, objetivándose una mayor frecuencia de diarrea y una duración de los síntomas menor al compararlos con los otros grupos de pacientes: inmigrantes y autóctonos. Este hallazgo sugiere, como describieron Stark *et al.* (100) que la infección por *D. fragilis* puede constituir una de las causas de diarrea del viajero.

Sin embargo, al no conocerse con exactitud el período de incubación de la enfermedad, la posible influencia de los viajes, al igual que muchos de los datos epidemiológicos relacionados con la estacionalidad de la infección, deben ser analizados con precaución.

A diferencia de otros parásitos, no está clara la relación de *D. fragilis* con la inmunosupresión. En pacientes con infección por el VIH, los pocos resultados

disponibles son contradictorios. Méndez *et al.* (68) estudiaron dos grupos de pacientes: uno compuesto por 82 pacientes VIH positivos sin síntomas digestivos, y otro grupo de 300 pacientes, VIH negativos como control. Detectaron un porcentaje significativamente mayor de infección por *D. fragilis* en los pacientes VIH positivos (25,3%). Por el contrario, Lainson *et al.* (67) identificaron *D. fragilis* en <1% de los pacientes con VIH. Otro estudio llevado a cabo por Stensvold *et al.* (76) en Dinamarca describe una prevalencia del 3% en pacientes infectados por VIH, inferior a la de la población inmunocompetente. En un estudio llevado a cabo en el Hospital Universitario Vall d'Hebron por Miguel *et al.* (114), 17 de 108 pacientes diagnosticados de infección por *D. fragilis* (15,7%) estaban inmunodeprimidos: 14 por VIH, 2 por neoplasias hematológicas y 1 paciente porque se encontraba bajo tratamiento con anticuerpos monoclonales por estar diagnosticado de artritis reumatoide, sin describirse ninguna diferencia en cuanto a la sintomatología o la evolución clínica con respecto a los pacientes inmunocompetentes.

Esteghamati *et al.* (102) estudiaron la prevalencia de infecciones parasitarias, entre ellas *D. fragilis*, en pacientes inmunodeprimidos por diversas causas: neoplasia, inmunodeficiencia primaria o trasplantes de corazón o riñón. *D. fragilis* fue el protozoo más frecuente después de *B. hominis* y *G. lamblia*, sin objetivarse una prevalencia superior a la población general.

En nuestro estudio únicamente 3 pacientes presentaban una coinfección por VIH, y un paciente se encontraba a tratamiento crónico con corticoides por un trasplante de hígado, siendo su clínica y evolución similar a la del resto de participantes.

5.3 PATOGENICIDAD Y SINTOMATOLOGÍA CLÍNICA.

La patogenicidad de *D. fragilis*, es quizás el aspecto más discutido de este protozoo desde su descubrimiento. Para algunos autores no sólo es patógeno, sino

que puede ser responsable de cuadros graves como colitis o apendicitis, para otros, sin embargo, se trata de un protozoo no patógeno que en muchos individuos se comporta como comensal. Tan solo existen dos estudios (20,103) publicados hasta la fecha y basados en un modelo animal con el objeto de demostrar que se trata de un organismo patógeno, mediante los postulados de Koch.

En cuanto la sintomatología clínica de la que es responsable *D. fragilis*, se han descrito múltiples síntomas, siendo los más frecuentes los digestivos. En la tabla 17 se reflejan los síntomas de los pacientes con infección por *D. fragilis* recogidos en algunos de los trabajos publicados hasta la fecha, en comparación con nuestros propios resultados.

El dolor abdominal y la diarrea, ambos de duración e intensidad variable, tanto aguda como crónica, son los síntomas que la mayor parte de autores describen como característicos de esta infección. En la tabla 17 se observa que los síntomas comunes a todos los trabajos comparados son el dolor abdominal, con una frecuencia que oscila entre un 19,44% (114) y un 100% (104), y la diarrea, que en la mayoría de los estudios no se especifica si es aguda o crónica, y cuya frecuencia descrita es de un 21,17% (126) a un 100% (2).

Rayan *et al.* (4) analizaron muestras procedentes de 168 pacientes, de los cuales 50 (27,76%) presentaban *D. fragilis*, demostrando que la diarrea y el dolor abdominal eran significativamente más frecuentes en pacientes infectados en comparación con los que no lo estaban ($p < 0,05$).

Cuffari *et al.* (101) describieron la anorexia, el dolor abdominal y la diarrea como los síntomas más frecuentes, con una duración de entre 1 y 100 semanas. Windsor *et al.* (19) observaron la presencia de dolor abdominal en el 80% de los pacientes, con una duración que oscila desde un mes a dos años. Aykur *et al.* (78) estudiaron 490 pacientes, de los cuales 59 presentaban *D. fragilis* en heces, y demostraron que la diarrea se asociaba con la infección por dicho protozoo de forma significativa ($p = 0,001$).

DISCUSIÓN

Tabla 17. Tabla comparativa de la frecuencia de los síntomas de los pacientes con infección por *Dientamoeba fragilis* reflejados en algunos de los estudios publicados.

	Grendon et al. (1995) (95) N=55	Norberg et al. (2003) (94) N=79	Vandenberg et al. (2006) (116) N=26	Stark et al. (2010) (2) N=39	Banik et al. (2011) (117) N=41	Schure et al. (2013) (97) N=238	Röser et al. (2014) (126) N=96	Maas et al. (2014) (85) N=104	Jong et al. (2014) (104) N=57	Miguel et al. (2018) (114) N=108	Pietilä et al. (2019) (120) N=319	Menéndez et al. (2021) N=163
Asintomáticos	30,91%	2,53%	–	–	2,44%	4,20%	–	–	–	–	15,36%	34,36%
Dolor abdominal	60,00%	41,77%	69,23%	71,79%	29,27%	72,70%	71,88%	76,92%%	100%	19,44%	54,86%	37,42%
Distensión abdominal	47,27%	–	–	–	–	2,94%	–	–	–	8,33%	32,60%	9,82%
Diarrea aguda	45,45%	41,77%	61,54%	76,92%	70,73%	46,64%	21,17%%	11,54%	45,61%	34,26%	63,32%	6,13%
Diarrea crónica				23,08%	2,44%			15,38%				14,72%
Náuseas	27,27%	6,33%	7,69%	7,69%	–	27,31%	42,70%	29,81%	50,91%	4,63%	12,54%	4,91%
Vómitos	7,27%	12,66%			2,44%	–	14,58%	13,46%	20,00%		9,40%	
Fiebre		10,13%	3,85%	5,13%	–	7,56%	14,58%	–	16,67%	–	8,46%	1,23%
Pérdida de peso	16,36%	5,06%	15,38%	–	–	9,66%	–	13,46%	13,51%	–	11,60%	4,91%
Clínica cutánea	–	–	7,69%	–	–	–	1,04%	–	–	–	–	7,98%
Prurito cutáneo	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	6,75%
Prurito anal	43,64%	10,13%	11,54%	–	–	–	51,04%	15,38%	–	4,63%	7,21%	6,13%
Eosinoflia	–	–	–	13,64%	–	19,33%	–	–	25,00%	24,07%		26,38%

Norberg *et al.* (94) observaron en 89 pacientes infectados por *D. fragilis*, que los síntomas más frecuentes eran el dolor abdominal (37%), la diarrea (30%), la astenia (18%) y los vómitos (11,2%). Ocho pacientes tuvieron prurito anal, aunque dada la alta frecuencia de coinfección por *E. vermicularis*, es cuestionable si la presencia de este síntoma es un indicador de coinfección por ambos parásitos.

En nuestro estudio hemos observado la presencia de dolor abdominal en un 37,42% de los casos, y de diarrea en un 20,85% (en 6,13% diarrea aguda y en 14,72% diarrea crónica), frecuencias ambas, de las más bajas respecto a los estudios citados, frente a un 30,36% de pacientes asintomáticos, de las más elevadas de la literatura. Este contraste es debido a que en nuestro estudio un porcentaje importante de los pacientes incluidos eran contactos de pacientes inicialmente diagnosticados, y dentro este grupo, muchos individuos se encontraban asintomáticos. Si analizamos la frecuencia de dolor abdominal y diarrea únicamente en el grupo de pacientes etiquetados como casos índice, observamos que ambos porcentajes ascienden de manera notable, de modo que un 58,46% presentaban dolor abdominal, y un 33,85% diarrea (9,23% aguda y 24,62% crónica).

Algunos autores han relacionado la presencia de dolor abdominal con las infecciones crónicas (71,123), y la presencia de diarrea con las infecciones agudas (123). Spencer *et al.* (123) estudiaron 35 niños infectados por *D. fragilis*, demostrando la presencia de síntomas gastrointestinales en un 91% de ellos, siendo la diarrea el síntoma más frecuente entre los niños con clínica aguda, frente al dolor abdominal que resultó más frecuente en aquellos niños con sintomatología crónica. Preiss *et al.* (71) describieron la diarrea aguda y recurrente como síntoma más común, y el dolor abdominal en aquellos pacientes con infecciones crónicas. En nuestro estudio el dolor abdominal fue el síntoma más común tanto en los pacientes con infección aguda como en los pacientes con infección crónica. Sin embargo, el porcentaje de pacientes con dolor abdominal e infección crónica fue superior al de pacientes con

dolor abdominal e infección aguda, aunque sin significación estadística (30/50 frente a 8/15, $p=0,647$).

No se observaron diferencias significativas en la presentación clínica de la infección según la procedencia de los pacientes, ni tampoco comparando los niños con los adultos. En los pacientes pertenecientes al grupo de viajeros, resultó más frecuente la diarrea aguda (17,39%) en comparación con los pacientes autóctonos e inmigrantes (4,44% y 4,00% respectivamente) aunque sin diferencias significativas ($p=0,078$).

Otros síntomas digestivos referidos por los pacientes, aunque con menor frecuencia, son la distensión abdominal (95,97,114), las náuseas y/o vómitos (94,95,116,117,120) o la flatulencia (97,104,125), todos ellos con frecuencias muy variables en la literatura. En nuestro estudio la distensión abdominal estuvo presente en un 9,82% de los pacientes y las náuseas/vómitos en un 4,91%. En ambos casos las frecuencias observadas en comparación con otros estudios, son de las más bajas, hecho que atribuimos, como se ha referido anteriormente, al elevado porcentaje de contactos (muchos asintomáticos) incluidos en nuestro estudio.

También se han descrito cuadros de mayor gravedad en forma de colitis o apendicitis. De los 163 pacientes incluidos en el estudio, observamos dos casos de ileitis y uno de colitis, diagnosticados mediante colonoscopia, cuya única causa atribuible fue la infección por *D. fragilis*, y que se resolvieron tras recibir tratamiento antibiótico para este protozoo. Ockert *et al.* (106) describieron la presencia de cambios inflamatorios en la mucosa de colon y sigma de pacientes infectados por *D. fragilis*, y Shein *et al.* (105) describieron la presencia de úlceras en una biopsia intestinal de un paciente diagnosticado de infección por este protozoo. Estos hallazgos son los que hemos observado en el examen macroscópico de las biopsias intestinales realizadas a la paciente incluida en nuestro estudio y diagnosticada de colitis por *D. fragilis*. El análisis histológico demostró la presencia de un infiltrado inflamatorio neutrofílico que afectaba a la mucosa, concretamente al epitelio de

superficie y a la lámina propia, similar al descrito por El-Gayar *et al.* (103) en 2016, en el estudio que estos autores realizaron en ratones con el fin de demostrar la patogenicidad de *D. fragilis*.

Muchos autores han establecido la relación entre *D. fragilis* y el síndrome de intestino irritable (86,99,127,128,130,131). Yakoob *et al.* (127) realizaron un estudio de casos y controles en el que incluyeron 171 pacientes diagnosticados de síndrome de intestino irritable, y 159 controles, demostrando que la incidencia de infección por *D. fragilis* era superior en el grupo de casos ($p=0,03$). Concluyen que en aquellos pacientes con clínica compatible con síndrome de intestino irritable sería recomendable realizar un despistaje de *D. fragilis*. Engsbro *et al.* (99) estudiaron 138 pacientes de edades comprendidas entre 18 y 50 años, con síndrome de intestino irritable, e identificaron la presencia de *D. fragilis* en un 35% de los casos al inicio del estudio y en un 41% durante el seguimiento. En otro estudio, los mismos autores trataron veinticinco pacientes diagnosticados de síndrome de intestino irritable e infectados por *D. fragilis* con metronidazol o tetraciclina, y observaron respuesta microbiológica en un 60% de los pacientes y respuesta clínica en un 32%. De todos estos estudios se deduce que quizás sería interesante incluir el despistaje de *D. fragilis* en el estudio de pacientes con síntomas compatibles con este síndrome. Algunos de los pacientes analizados en nuestro estudio, acudían derivados desde otros servicios médicos, generalmente desde el Servicio de Digestivo sin un diagnóstico claro, pero describiendo un cuadro clínico prolongado e insidioso, cuyos síntomas podrían confundirse fácilmente con un síndrome de intestino irritable, por lo que mantener una elevada sospecha diagnóstica vuelve a ser fundamental. A aquellos pacientes con los síntomas descritos e infectados por *D. fragilis*, se les indicó tratamiento erradicador, objetivándose una mejoría clínica e incluso la resolución del cuadro.

El síndrome general, que incluye la presencia de fiebre, astenia, anorexia, pérdida de peso y ausencia de ganancia ponderal en niños, ha sido descrito por

varios autores. La frecuencia de estos síntomas es variable: fiebre entre un 3,85% (116) y un 16,67% (104), pérdida de peso entre un 5,06% (94) y un 16,36% (95), anorexia entre 24,53% (104) y 11,54% (116), y astenia entre un 9,4% (62) y 11,54% (116). Además, Roser *et al.* (126) describen, en el caso concreto de los niños, la ausencia de ganancia ponderal. En nuestro caso un 4,91% de los pacientes describió pérdida de peso, únicamente un 1,23% presentaba fiebre y ningún paciente refería anorexia.

También se ha relacionado la infección por *D. fragilis* con la presencia de alteraciones cutáneas, principalmente en forma de urticaria, presente en un 7,98% de nuestros pacientes, cifra similar a la observada por Vandenberg *et al.* (116). En nuestro estudio hemos observado una elevada tasa de coinfección por *Blastocystis* spp, protozoo que también se ha asociado con la aparición de urticaria, de modo que 5 de los 13 pacientes con manifestaciones cutáneas se encontraban coinfectados.

Otros síntomas descritos por los pacientes son el prurito cutáneo, ligado a la presencia de urticaria, y el prurito anal, que probablemente este interferido por la coinfección por *E. vermicularis*, muy frecuente en estos pacientes, como ya se ha señalado.

Con respecto a la duración de los síntomas la mayoría de los autores describen la presencia de síntomas crónicos. Norberg *et al.* (94) demostraron que la duración de los síntomas varía entre 1 y 630 semanas, siendo más larga en pacientes varones, sobre todo menores de 10 años, con un pequeño pico en individuos alrededor de 40 años. Stark *et al.* (2) observaron síntomas de una duración superior a dos semanas en un 25% de los pacientes, y Jong *et al.* describen sintomatología crónica (>6 meses) en más del 60% de los pacientes. En nuestro estudio la duración media de los síntomas resultó ser de 141,77 [±155,03] días, con un rango entre 4 y 730. En este sentido, es de reseñar, que muchos de los pacientes con síntomas crónicos, de incluso años de evolución, han sido valorados en la consulta de Medicina Tropical tras haber sido estudiados por múltiples especialidades médicas

sin haber llegado a ningún diagnóstico. Este hecho probablemente haya condicionado que un elevado porcentaje de los pacientes analizados describiese la presencia de síntomas crónicos.

Al comparar la duración de los síntomas entre los tres grupos de pacientes, se observa que ésta es mucho menor en los pacientes inmigrantes y viajeros con respecto a los pacientes autóctonos ($p=0,003$). Este hecho apoya una vez la hipótesis de que *D. fragilis* pueda ser una de las causas de diarrea del viajero. En cuanto a la mayor duración en pacientes autóctonos, quizás se deba a que en este grupo de población existe una menor sospecha diagnóstica, lo que ocasiona un importante retraso en la identificación de *D. fragilis*.

Estudios recientes afirman la elevación de calprotectina en heces como marcador de inflamación intestinal en pacientes con infección por *D. fragilis* (108). En nuestro trabajo no se realizó esta determinación de forma sistemática, pero quizás para estudios posteriores sea un dato interesante para analizar.

Dientamoeba fragilis es el único protozoo, junto con *Isospora belli*, capaz de producir eosinofilia. En la literatura se describe la presencia de eosinofilia hasta en más del 60% (101) de los pacientes con infección por *D. fragilis*. En nuestro estudio la eosinofilia estuvo presente en 43 de 163 pacientes, lo que supone un 26,38%, siendo importante reseñar que fue el único dato clínico en 18 pacientes. Esta cifra es similar a la descrita en el estudio realizado por Miguel *et al.* (114) en España (24,07%), cuyos autores proponen incluir la infección por *D. fragilis* en el diagnóstico diferencial de la eosinofilia. Otros trabajos describen prevalencias muy variables: Stark *et al.* (2): 13,64%, Schure *et al.* (97): 19,33%, Jong *et al.* (104): 25,00%, Preiss *et al.* (71): 32%, Spencer *et al.* (123): 50% y Cuffari *et al.* (101): 63,64%.

Pese a la cada vez más amplia literatura que describe los síntomas atribuidos a *D. fragilis*, todavía algunos autores cuestionan su patogenicidad. Por esta razón, en nuestro trabajo se diseñó un estudio de casos y controles, con el propósito de analizar la relación de estos síntomas con la infección por *D. fragilis*. Nuestros

resultados muestran que en el grupo de casos era significativamente más frecuente la presencia de dolor abdominal y de diarrea crónica ($p < 0,001$; OR 3,757 [1,749-8,075] y $p = 0,004$; OR 6,258 [1,756-22,306], respectivamente) y que, por el contrario, la ausencia de síntomas era significativamente más frecuente en el grupo control (51 frente a 30, $p = 0,002$; OR 2,593 [1,420-4,733]), apoyando la hipótesis de la patogenicidad de *D. fragilis*.

Se han publicado hasta la fecha pocos estudios de casos y controles. El único en que se comparan pacientes diagnosticados de infección por *D. fragilis* frente a controles no infectados, al igual que en nuestro estudio, ha sido llevado a cabo por Banik *et al.* (117). Estos autores compararon 2 grupos de pacientes de edades comprendidas entre 1 y 15 años: un grupo de casos formado por 41 niños diagnosticados de infección por *D. fragilis* frente a un grupo control formado por 41 niños sin *D. fragilis*. Describieron la presencia de al menos un síntoma en un 98% de los pacientes infectados, siendo el más frecuente la diarrea, seguido del dolor abdominal, pero únicamente obtuvieron resultados estadísticamente significativos en el caso de la diarrea ($p < 0,002$). Los otros estudios de casos y controles (104,110,111), comparan pacientes con síntomas gastrointestinales frente a pacientes asintomáticos, observando prevalencias de *D. fragilis* similares en ambos grupos, incluso superiores en el grupo control.

No cabe duda que un porcentaje de pacientes infectados por *D. fragilis* permanecen asintomáticos, y que, como han descrito algunos autores, la patogenicidad de este protozoo y por tanto la presencia e intensidad de los síntomas, probablemente se encuentre en relación con el grado de inóculo, como así se demostró en los dos estudios realizados basados en un modelo animal (20,103).

Los resultados obtenidos en aquellos estudios en los que se comparan los pacientes en función de la presencia o no de síntomas gastrointestinales, en lugar de comparar los pacientes infectados y no infectados por *D. fragilis*, deben ser tomados en cuenta con precaución, dada la prevalencia de *D. fragilis* en la población

general, así como el elevado número de pacientes que estando infectados se encuentran asintomáticos.

Los resultados observados en nuestro estudio de casos y controles son, por tanto, únicamente comparables a los obtenidos por Banik *et al.* (117) demostrándose que tanto la presencia de diarrea ($p<0,002$) en el caso de estos autores, como de dolor abdominal y diarrea crónica en nuestro estudio ($p<0,001$ y $p=0,004$ respectivamente), se asocian significativamente a la infección por dicho protozoo.

Por otro lado, haciendo referencia al estudio de contactos, hemos observado que aquellos contactos o convivientes infectados presentan con más frecuencia síntomas que los no infectados ($p=0,016$). En el estudio de un grupo semicomunal, llevado a cabo por Millet *et al.* (69), al comparar los individuos infectados respecto a los que no lo estaban, identificaron una mayor frecuencia tanto de síntomas en general ($p<0,005$), como de dolor abdominal agudo ($p<0,01$) y crónico ($p<0,005$), y de flatulencia ($p<0,001$), dentro de aquellos que se encontraban infectados.

En definitiva, *D. fragilis* es un protozoo capaz de producir sintomatología clínica diversa, especialmente de la esfera digestiva, y en ocasiones cuadros de mayor gravedad como colitis o ileitis, que conviven junto a formas asintomáticas.

El hecho de que existan portadores asintomáticos, o de que la gravedad de los síntomas varíe de unos pacientes a otros, sin embargo, no debería ser considerado como un factor fundamental para descartar la patogenicidad de *D. fragilis*, frente a la abrumadora evidencia de aparición de síntomas recogida por la mayoría de los autores. Está aceptado desde hace años la presencia de portadores asintomáticos de otros protozoos, como *Entamoeba histolytica* y *Giardia intestinalis*, e incluso la necesidad de tratamiento de los mismos sin que su, por otra parte, más que evidente, patogenicidad, haya sido objeto de discusión. Deberíamos plantearnos porque a *D. fragilis* le pedimos que muestre más pruebas que al resto de protozoos.

5.4 TRATAMIENTO.

Desde la primera descripción de *D. fragilis*, han sido múltiples los estudios realizados para evaluar las diferentes alternativas terapéuticas, pero aún no existe consenso acerca del tratamiento de elección.

En nuestro país se emplean dos de los tres fármacos recomendados en la actualidad por los CDC: metronidazol y paromomicina. El tercer fármaco es el yodoquinol, de uso frecuente en otros países, como Estados Unidos o Australia, pero no comercializado en España.

En términos generales, en nuestro estudio se indicó tratamiento médico con uno de los dos fármacos descritos, a todos los pacientes diagnosticados de infección por *D. fragilis*.

Con respecto al metronidazol, las tasas de curación reflejadas en la literatura oscilan entre un 52,4% (97) y el 85% (117), frente a la paromomicina, que muestra tasas de curación mucho más elevadas: entre el 80% (116) y el 100% (2,101). Es cierto que el número de estudios realizados con este segundo fármaco es significativamente menor, y el número de participantes incluidos también.

La eficacia de los dos fármacos descritos (metronidazol y paromomicina), junto con la dosis, reflejada en los diferentes trabajos que los comparan se muestra en la tabla 18.

Únicamente se ha realizado hasta la fecha un ensayo clínico, randomizado y controlado con placebo (126), con el fin de evaluar la eficacia del metronidazol. Este estudio, incluyó 96 niños diagnosticados de infección por *D. fragilis*, que fueron aleatorizados en 2 grupos, el primero tratado con metronidazol y el segundo con placebo, describiendo tasas de erradicación de 68,2% frente a 11,4% a las 4 semanas. Sin embargo, este estudio ha sido cuestionado desde el punto de vista metodológico por varios motivos (173). La hipótesis nula es la ausencia de efecto medible en variables clínicas o microbiológicas en los pacientes tratados con metronidazol frente al placebo. Sin embargo, el hecho de no haber encontrado diferencias entre

ambos tratamientos no prueba dicha hipótesis. Por otro lado, la muestra incluida es muy pequeña (48 niños por grupo), y además cuando los autores analizan la presencia de síntomas gastrointestinales en los pacientes que recibieron tratamiento con metronidazol con éxito, frente a los que recibieron placebo, únicamente incluyen 14 en el primer grupo y 44 en el segundo. Esta comparación se realizó tras finalizar el estudio, y no en la fase de diseño del mismo, con el consiguiente sesgo en sus resultados. Por último, se observó la erradicación espontánea en 4 pacientes dentro del grupo placebo, hecho que puede actuar como factor de confusión en el análisis de los resultados.

Tabla 18. Eficacia del tratamiento con metronidazol y paromomicina en los diferentes estudios.

	<i>Metronidazol</i>			<i>Paromomicina</i>		
	<i>N</i>	<i>Dosis</i>	<i>Eficacia</i>	<i>N</i>	<i>Dosis</i>	<i>Eficacia</i>
Cuffari <i>et al.</i> (1998) (101)	6	<i>Desconocida</i>	83,33%	1	<i>Desconocida</i>	100%
Vandenberg <i>et al.</i> (2006) (116)	12	500–750 mg/ 8 horas, 10 días	66,70%	4	25-35 mg/kg/día, 7 días	80%
Stark <i>et al.</i> (2010) (2)	28	400–750 mg, cada 8 horas o una vez al día, 3- 10 días	80%	5	8-12 mg/kg día, 7-10 días	100%
Hellemond <i>et al.</i> (2012) (154)	7	3 dosis/día de 500 mg, 7–10 días	57%	61	3 dosis/ día de 500 mg, 7-10 días	98%
Burgaña <i>et al.</i> (2019) (57)	483	-500-750 / 8 horas, 10 días - Niños: 30 mg/kg/ día, 10 días	65,4%	119	25-35 mg/kg/día/ 8 horas, 7 días	81,8%
Menéndez <i>et al.</i> (2021)	85	-Niños (<10 años): 7,5 mg/kg/ 8 horas, 10 días - Adultos y niños >10 años: 500 mg/8 horas, 10 días	88,24%	69	-Niños < 14 años: 25-35 mg/kg/día, 7 días -Adultos: 500 mg/ 8 horas, 7 días.	94,20%

En el estudio realizado por Miguel *et al.* (114) en España únicamente se administró tratamiento a 29 de 108 pacientes, 25 de los cuales recibieron metronidazol, 3 paromomicina y uno yodoquinol. De estos pacientes se les realizó un estudio coproparasitario de control solamente a 14, objetivándose la erradicación de *D. fragilis* en un 85,71% de ellos (sin especificarse el porcentaje de curación con cada uno de los fármacos empleados).

El otro estudio llevado a cabo en España, es el publicado recientemente por Buraña *et al.* (57). En él, se incluyeron 586 pacientes, siendo hasta la fecha el estudio con mayor número de participantes. Estos autores describen unas tasas de curación de 81,8% con paromomicina frente a un 65,4% con metronidazol, con una diferencia estadísticamente significativa entre ambos fármacos ($p=0,007$).

En nuestro estudio hemos observado tasas de curación con los dos tratamientos empleados de las más elevadas de la literatura (88,24% con metronidazol y 94,20% con paromomicina), sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p=0,317$; OR 0,462 [0,138-1,542]). Es cierto que, al igual que la mayoría de trabajos publicados, se trata de un estudio retrospectivo, con las consiguientes limitaciones.

El único factor asociado a la no curación resultó ser la coinfección por *E. vermicularis* ($p=0,002$; OR 6,387 [1,995-20,448]), tanto en el propio paciente como en convivientes ($p=0,013$; OR 4,390 [1,387-13,984]). Como se ha comentado anteriormente la coinfección por *E. vermicularis* parece jugar un papel importante en la transmisión de este protozoo, actuando como vector del mismo. Por este motivo se ha realizado un despistaje en todos nuestros pacientes, y se han tratado los casos diagnosticados, así como los núcleos familiares afectos. Este hecho podría explicar que las tasas de curación que hemos observado en nuestro estudio sean tan elevadas.

Por otro lado, se ha descrito en la literatura, aunque en contadas ocasiones, algún caso de curación espontánea, un ejemplo es el estudio llevado a cabo por

Hellemond *et al.* (154) en 2012. Estos autores describen hasta en un 41% de individuos la erradicación espontánea de *D. fragilis*. Banik *et al.* (117) describen la erradicación espontánea de *D. fragilis* en 3 de 48 pacientes pertenecientes al grupo placebo del ensayo clínico anteriormente citado. De los 163 pacientes de nuestro estudio únicamente hemos objetivado un caso de curación espontánea, en un paciente que cuando acudió a la consulta presentaba un estudio coproparasitario de unos meses antes, positivo para *D. fragilis*, pero su sintomatología clínica había remitido pese a no haber recibido tratamiento alguno. Por este motivo se le solicitó un nuevo estudio que resultó negativo para *D. fragilis*.

En definitiva, el metronidazol es un tratamiento seguro y eficaz, sobre todo en pacientes que presentan coinfecciones por otros parásitos. La paromomicina muestra tasas de curación ligeramente superiores, tanto en nuestro estudio como en la literatura. En cualquier caso, es importante tener en cuenta otros factores que puedan condicionar tanto el fracaso terapéutico, como es la coinfección por *E. vermicularis*, como las reinfecciones, como es la presencia de convivientes infectados por *D. fragilis*. Ambos factores han sido estudiados de manera sistemática en nuestros pacientes, lo cual probablemente haya sido el motivo por el cual hemos obtenido tasas de curación tan elevadas.

De todos modos, son necesarios más estudios multicéntricos, aleatorizados, doble ciego y con un mayor número de participantes, para evaluar los diferentes tratamientos disponibles y su eficacia de manera rigurosa.

5.5 SEGUIMIENTO.

El seguimiento de los pacientes una vez finalizado el tratamiento es uno de los aspectos con menor evidencia hasta la fecha. No cabe duda que es necesaria la realización de un estudio coproparasitario de control (113,173), con el fin de comprobar la erradicación de *D. fragilis*, sobre todo teniendo en cuenta la alta tasa de recidivas y reinfecciones descritas en muchos trabajos. A nuestros pacientes se

les realizó un estudio 4 semanas después de finalizar el tratamiento, objetivándose la presencia de *D. fragilis* en 14 de pacientes, que recibieron un segundo ciclo de tratamiento con paromomicina con éxito.

Además, algunos autores, proponen la realización de un cribado de los contactos domiciliarios de los pacientes infectados (aunque se encuentren asintomáticos) (42,43,113), así como el despistaje de forma sistemática tanto a pacientes como a convivientes de la coinfección por *E. vermicularis* (16,33). Ambos estudios fueron realizados a nuestros pacientes, hecho que como hemos comentado, probablemente haya condicionado la elevada tasa de curaciones observada.

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados, de los resultados obtenidos y su discusión, hemos establecido las siguientes conclusiones:

1. La infección por *Dientamoeba fragilis* tiene una prevalencia elevada en nuestro medio, y es causa de una gran variedad de síntomas, siendo los más frecuentes los gastrointestinales, de intensidad y duración variable. Es más frecuente en niños y en adultos en edad parental.
2. La prevalencia de la infección por *Dientamoeba fragilis* en contactos domiciliarios de pacientes infectados es muy elevada, especialmente cuando existen niños en el núcleo familiar, y/o cuando algún miembro se encuentra coinfectado por *E. vermicularis*. Estos pacientes a menudo se encuentran asintomáticos, actuando como reservorio de la infección. Es fundamental el cribado de todos los convivientes de los pacientes infectados para evitar la aparición de recidivas y contribuir al éxito terapéutico.
3. Los fármacos empleados en nuestro medio para el tratamiento de la infección por *Dientamoeba fragilis* son dos: metronidazol y paromomicina. Comparando ambos, las tasas de curación con paromomicina son discretamente superiores, si bien el metronidazol es una buena opción de tratamiento sobre todo en pacientes coinfectados por otros parásitos.
4. La tasa de coinfección por *Enterobius vermicularis* en pacientes con *Dientamoeba fragilis* es muy elevada, especialmente en niños, constituyendo la principal causa de fracaso terapéutico, si no se diagnostica y trata de forma concomitante. Es necesario, por tanto, el cribado de *E. vermicularis*, tanto en los pacientes diagnosticados de infección por *D. fragilis* como sus convivientes, y su tratamiento en caso de ser detectado.

5. *Dientamoeba fragilis* ha demostrado ser un protozoo patógeno, responsable de sintomatología múltiple. El contacto con niños, la residencia en zona rural y la coinfección por *E. vermicularis* son los tres factores de riesgo para la infección por *D. fragilis* que hemos identificado en nuestro estudio.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Stark D, Barratt J, Chan D, Ellis JT. *Dientamoeba fragilis*, the neglected trichomonad of the human bowel. *Clin Microbiol Rev.* 2016;29(3):553-580.
2. Stark D, Barratt J, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis J. A review of the clinical presentation of dientamoebiasis. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;82(4):614-619.
3. Lagacé-Wiens PR, VanCaeseele PG, Koschik C. *Dientamoeba fragilis*: An emerging role in intestinal disease. *CMAJ.* 2006;175(5):468-469.
4. Rayan HZE, Ismail OA, el Gayar EK. Prevalence and clinical features of *Dientamoeba fragilis* infections in patients suspected to have intestinal parasitic infection. *J Egypt Soc Parasitol.* 2007;37(2):599-608.
5. Johnson EH, Windsor JJ, Clark CG. Emerging from obscurity: Biological, clinical, and diagnostic aspects of *Dientamoeba fragilis*. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17(3):553-570.
6. Menendez Fernández-Miranda C, Fernández Suárez J, Moran Suárez N, Fernández Dominguez J, Martínez Sela M, Rodríguez Pérez M, Rodríguez-Guardado A. *Dientamoeba fragilis* infection. En: Dong Liu. Handbook of Foodborne Diseases. London: CRC Press; 2018. p. 597-606.
7. Stark D. Chapter 213 - *Dientamoeba fragilis* Infections. Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 8^o ed. Elsevier; 2014. p. 2884-2887.
8. Menéndez C, Fernández-Suarez J, Boga Ribeiro JA, Rodríguez-Pérez M, Vázquez F, Gonzalez-Sotorrios N, Rodríguez-Guardado A. Epidemiological and clinical characteristics of *Dientamoeba fragilis* infection. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2019;37(5):290-295.
9. Jepps MW, Dobell C. *Dientamoeba fragilis* n. g., n. sp., a new intestinal amoeba from man. *Parasitology.* 1918;10(3):352-367.
10. Dobell C. Researches on the intestinal protozoa of monkeys and man: X. The life-history of *Dientamoeba fragilis*: Observations, experiments, and speculations. *Parasitology.* 1940;32(4):417-461.
11. Camp RR, Mattern CFT, Honigberg BM. Study of *Dientamoeba fragilis* Jepps & Dobell I. Electronmicroscopic Observations of the Binucleate Stages II. Taxonomic Position and Revision of the Genus. *J Protozool.* 1974;21(1):69-82.

12. Dwyer DM. Analysis of the Antigenic Relationships Among *Trichomonas*, *Histomonas*, *Dientamoeba*, and *Entamoeba*. I. Quantitative Fluorescent Antibody Methods. *J Protozool.* 1972;19(2):316-325.
13. Dwyer DM. Analysis of the Antigenic Relationships Among *Trichomonas*, *Histomonas*, *Dientamoeba*, and *Entamoeba*. II. Gel Diffusion Methods. *J Protozool.* 1972;19(2):326-332.
14. Dwyer DM. Analysis of the Antigenic Relationships Among *Trichomonas*, *Histomonas*, *Dientamoeba* and *Entamoeba* III. Immunoelectrophoresis Technics. *J Protozool.* 1974;21(1):139-145.
15. Cepicka I, Hampl V, Kulda J. Critical taxonomic revision of parabasalids with description of one new genus and three new species. *Protist.* 2010;161(3):400-433.
16. Garcia LS. *Dientamoeba fragilis*, one of the neglected intestinal protozoa. *J Clin Microbiol.* 2016;54(9):2243-2250.
17. Bird RG, Sargeant P, Upton CP. Uni- and binucleate trophozoites of *Dientamoeba fragilis*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1970;64(1):18.
18. Banik GR, Birch D, Stark D, Ellis JT. A microscopic description and ultrastructural characterisation of *Dientamoeba fragilis*: An emerging cause of human enteric disease. *Int J Parasitol.* 2012;42(2):139-153.
19. Windsor JJ, Johnson EH. *Dientamoeba fragilis*: The unflagellated human flagellate. *Br J Biomed Sci.* 1999;56(4):293-306.
20. Munasinghe VS, Vella NGF, Ellis JT, Windsor PA, Stark D. Cyst formation and faecal-oral transmission of *Dientamoeba fragilis* - The missing link in the life cycle of an emerging pathogen. *Int J Parasitol.* 2013;43(11):879-883.
21. Wenrich DH. Studies on *Dientamoeba fragilis* (Protozoa). III. Binary Fission with Special Reference to Nuclear Division. *J Parasitol.* 1939;25(1):43-55.
22. Stark D, Garcia LS, Barratt JLN, Phillips O, Roberts T, Marriott D, et al. Description of *Dientamoeba fragilis* cyst and precystic forms from human samples. *J Clin Microbiol.* 2014;52(7):2680-2683.
23. Johnson JA, Clark CG. Cryptic genetic diversity in *Dientamoeba fragilis*. *J Clin Microbiol.* 2000;38(12):4653-4654.

24. Peek R, Reedecker FR, van Gool T. Direct amplification and genotyping of *Dientamoeba fragilis* from Human Stool Specimens. *J Clin Microbiol.* 2004;42(2):631-635.
25. Cacciò SM. Molecular epidemiology of *Dientamoeba fragilis*. *Acta Trop.* 2018;184:73-77.
26. Greigert V, Abou-Bacar A, Brunet J, Nourrisson C, Pfaff AW, Benarbia L, et al. Human intestinal parasites in Mahajanga, Madagascar: The kingdom of the protozoa. *PLoS One.* 2018;13(10):e0204576.
27. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Detection of *Dientamoeba fragilis* in fresh stool specimens using PCR. *Int J Parasitol.* 2005;35(1):57-62.
28. Hussein EM, Al-Mohammed HI, Hussein AM. Genetic diversity of *Dientamoeba fragilis* isolates of irritable bowel syndrome patients by high-resolution melting-curve (HRM) analysis. *Parasitol Res.* 2009;105(4):1053-1060.
29. Gough R, Barratt J, Stark D, Ellis J. Diversity profiling of xenic cultures of *Dientamoeba fragilis* following systematic antibiotic treatment and prospects for genome sequencing. *Parasitology.* 2020;147(1):29-38.
30. Barratt JLN, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. The ambiguous life of *Dientamoeba fragilis*: the need to investigate current hypotheses on transmission. *Parasitology.* 2011;138(5):557-572.
31. Ögren J, Dienus O, Löfgren S, Iveroth P, Matussek A. *Dientamoeba fragilis* DNA detection in *Enterobius vermicularis* eggs. *Pathog Dis.* 2013;69(2):157-158.
32. Clark CG, Röser D, Stensvold CR. Transmission of *Dientamoeba fragilis*: Pinworm or cysts? *Trends Parasitol.* 2014;30(3):136-140.
33. Girginkardeşler N, Kurt Ö, Kilimcioğlu AA, Ok ÜZ. Transmission of *Dientamoeba fragilis*: Evaluation of the role of *Enterobius vermicularis*. *Parasitol Int.* 2008;57(1):72-75.
34. Röser D, Nejsum P, Carlsgart AJ, Nielsen HV, Stensvold CR. DNA of *Dientamoeba fragilis* detected within surface-sterilized eggs of *Enterobius vermicularis*. *Exp Parasitol.* 2013;133(1):57-61.
35. Boga JA, Rojo S, Fernández J, Rodríguez M, Iglesias C, Martínez-Cambor P, Vázquez F, Rodríguez-Guardado, A. Is the treatment of *Enterobius vermicularis* co-

- infection necessary to eradicate *Dientamoeba fragilis* infection? *Int J Infect Dis.* 2016;49:59-61.
36. Burrows RB, Swerdlow MA. *Enterobius vermicularis* as a probable vector of *Dientamoeba fragilis*. *Am J Trop Med Hyg.* 1956;5(2):258-265.
 37. Ockert G. [Epidemiology of *Dientamoeba fragilis* Jepps and Dobell, 1918. 3. Further studies on *Enterobius* transmission through eggs]. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol.* 1975;19(1):17-21.
 38. Ockert G, Schmidt T. [On the epidemiology of *Dientamoeba fragilis* Jepps and Dobell 1918. 4th communication: evidence of *Dientamoeba fragilis* in *Enterobius* eggs using isoelectric point determination]. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol.* 1976;20(1):76-81.
 39. Yang J, Scholten T. *Dientamoeba fragilis*: a review with notes on its epidemiology, pathogenicity, mode of transmission, and diagnosis. *Am J Trop Med Hyg.* 1977;26(1):16-22.
 40. Millet VE, Spencer MJ, Chapin MR, Garcia LS, Yatabe JH, Stewart ME. Intestinal protozoan infection in a semicomunal group. *Am J Trop Med Hyg.* 1983;32(1):54-60.
 41. Menéndez Fernández-Miranda C, Fernández-Suarez J, Rodríguez-Pérez M, Menéndez Fernández-Miranda P, Vázquez F, Boga Ribeiro JA, Rodríguez-Guardado A. Prevalence of *D. fragilis* infection in the household contacts of a group of infected patients. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2018;36(7):423-427.
 42. Stark D, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis JT. Detection and transmission of *Dientamoeba fragilis* from environmental and household samples. *Am J Trop Med Hyg.* 2012;86(2):233-236.
 43. Stark D, Barratt J, Ellis J, Harkness J, Marriott D. Repeated *Dientamoeba fragilis* infections: a case report of two families from Sydney, Australia. *Infect Dis Rep.* 2009;1(1):e4.
 44. Kauppinen A, Pitkänen T, Al-Hello H, Maunula L, Hokajärvi AM, Rimhanen-Finne R, et al. Two drinking water outbreaks caused by wastewater intrusion including sapovirus in Finland. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(22):4376.

45. Helenbrook WD, Wade SE, Shields WM, Stehman SV, Whipps CM. Gastrointestinal parasites of ecuadorian mantled howler monkeys (*Alouatta palliata aequatorialis*) based on fecal analysis. *J Parasitol.* 2015;101(3):341-350.
46. Cacciò SM, Sannella AR, Manuali E, Tosini F, Sensi M, Crotti D, *et al.* Pigs as natural hosts of *Dientamoeba fragilis* genotypes found in humans. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(5):838-841.
47. Crotti D, Sensi M, Crotti S, Grelloni V, Manuali E. *Dientamoeba fragilis* in swine population: A preliminary investigation. *Vet Parasitol.* 2007;145(3-4):349-351.
48. Crotti D, Sensi M, Salamida S, Crotti S, Manuali E. Could be the swine responsible of transmission to the humans of *Dientamoeba fragilis* infection? *Microbiol Med.* 2011;26(1).
49. Ogunniyi T, Balogun H, Shasanya B. Ectoparasites and endoparasites of peridomestic house-rats in Ile-Ife, Nigeria and implication on human health. *Iran J Parasitol.* 2014;9(1):134-140.
50. Stark D, Phillips O, Peckett D, Munro U, Marriott D, Harkness J, *et al.* Gorillas are a host for *Dientamoeba fragilis*: An update on the life cycle and host distribution. *Vet Parasitol.* 2008;151(1):21-26.
51. Knowles R, das Gupta BM. Some Observations on the Intestinal Protozoa of Macaques. *Indian J Med Res.* 1936;24(2):547-556.
52. Myers BJ, Kuntz RE. Intestinal protozoa of the baboon *Papio doguera* Pucheran, 1856. *J Protozool.* 1968;15(2):363-365.
53. Chan D, Barratt J, Roberts T, Phillips O, Šlapeta J, Ryan U, *et al.* Detection of *Dientamoeba fragilis* in animal faeces using species specific real time PCR assay. *Vet Parasitol.* 2016;227:42-47.
54. Prociw P, Sawangjaroen N, Luke R. Diagnosis by faecal culture of *Dientamoeba fragilis* infections in Australian patients with diarrhoea. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1993;87(2):163-165.
55. Windsor JJ, Macfarlane L, Hughes-Thapa G, Jones SKA, Whiteside TM. Detection of *Dientamoeba fragilis* by culture. *Br J Biomed Sci.* 2003;60(2):79-83.
56. Ayadi A, Bahri I. *Dientamoeba fragilis*: A pathogenic flagellate? *Bull Soc Pathol Exot.* 1999;92(5):299-301.

57. Burgaña A, Abellana R, Yordanov SZ, Kazan R, Pérez Ortiz AM, Ramos CC, *et al.* Paromomycin is superior to metronidazole in *Dientamoeba fragilis* treatment. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 2019;11:95-100.
58. Calderaro A, Montecchini S, Rossi S, Gorrini C, de Conto F, Medici MC, *et al.* Intestinal parasitoses in a tertiary-care hospital located in a non-endemic setting during 2006-2010. *BMC Infect Dis.* 2014;14(1):264.
59. Crotti D, D'Annibale ML. Human intestinal parasitosis: role of *Dientamoeba fragilis* in human infections. *Ann Ig.* 2007;19(1):27-34.
60. Crotti D, D'Annibale ML. [*Dientamoeba fragilis* and dientamoebiasis: aspects of clinical parasitology and laboratory diagnosis]. *Parassitologia.* 2001;43(3):135-138.
61. Fletcher S, Caprarelli G, Merif J, Andresen D, van Hal S, Stark D, *et al.* Epidemiology and geographical distribution of enteric protozoan infections in Sydney, Australia. *J Public Health Res.* 2014;3(2):298.
62. Girginkardeşler N, Coşkun Ş, Cüneyt Balcioğlu I, Ertan P, Ok ÜZ. *Dientamoeba fragilis*, a neglected cause of diarrhea, successfully treated with secnidazole. *Clin Microbiol Infect.* 2003;9(2):110-113.
63. González-Moreno O, Domingo L, Teixidor J, Gracenea M. Prevalence and associated factors of intestinal parasitisation: A cross-sectional study among outpatients with gastrointestinal symptoms in Catalonia, Spain. *Parasitol Res.* 2011;108(1):87-93.
64. Jimenez S, Cortez J, Diaz M, Duran C, Hidalgo G, Aguilera W, *et al.* Prevalence of *Dientamoeba fragilis* among asymptomatic individuals from North Central Venezuela. *Int J Infect Dis.* 2010;14:e295-e296.
65. Kaminsky RG. Parasitism and diarrhoea in children from two rural communities and marginal barrio in Honduras. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1991;85(1):70-73.
66. Keystone JS, Yang J, Grisdale D, Harrington M, Pillon L, Andreychuk R. Intestinal parasites in metropolitan Toronto day-care centres. *Can Med Assoc J.* 1984;131(7):733-735.
67. Lainson R, da Silva BA. Intestinal parasites of some diarrhoeic HIV-seropositive individuals in North Brazil, with particular reference to *Isoospora belli* Wenyon, 1923 and *Dientamoeba fragilis* Jepps & Dobell, 1918. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999;94(5):611-613.

68. Méndez OC, Szmulewicz G, Menghi C, Torres S, González G, Gatta C. Comparison of intestinal parasite infestation indexes among HIV positive and negative populations. *Medicina (B Aires)*. 1994;54(4):307-310.
69. Millet V, Spencer MJ, Chapin M, Stewart M, Yatabe JA, Brewer T, *et al.* *Dientamoeba fragilis*, a protozoan parasite in adult members of a semicomunal group. *Dig Dis Sci*. 1983;28(4):335-339.
70. Ortega HB, Borchardt KA, Hamilton R, Ortega P, Mahood J. Enteric pathogenic protozoa in homosexual men from San Francisco. *Sex Transm Dis*. 1984;11(2):59-63.
71. Preiss U, Ockert G, Bromme S, Otto A. *Dientamoeba fragilis* infection, a cause of gastrointestinal symptoms in childhood. *Klin Padiatr*. 1990;202(2):120-123.
72. Sarkari B, Hosseini G, Motazedian MH, Fararouei M, Moshfe A. Prevalence and risk factors of intestinal protozoan infections: A population-based study in rural areas of Boyer-Ahmad district, Southwestern Iran. *BMC Infect Dis*. 2016;16(1):703.
73. Schuster H, Jackson RS. Prevalence of *Dientamoeba fragilis* among patients consulting complementary medicine practitioners in the British Isles. *J Clin Pathol*. 2009;62(2):182-184.
74. Shehata AI, Hassanein F. Intestinal parasitic infections among mentally handicapped individuals in Alexandria, Egypt. *Ann Parasitol*. 2015;61(4):275-281.
75. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Prospective study of the prevalence, genotyping, and clinical relevance of *Dientamoeba fragilis* infections in an Australian population. *J Clin Microbiol*. 2005;43(6):2718-2723.
76. Stensvold CR, Nielsen SD, Badsberg JH, Engberg J, Friis-Møller N, Nielsen SS, *et al.* The prevalence and clinical significance of intestinal parasites in HIV-infected patients in Denmark. *Scand J Infect Dis*. 2011;43(2):129-135.
77. Windsor JJ, Rafay AM, Shenoy AK, Johnson EH. Incidence of *Dientamoeba fragilis* in faecal samples submitted for routine microbiological analysis. *Br J Biomed Sci*. 1998;55(3):172-175.
78. Aykur M, Caliskan Kurt C, Dirim Erdogan D, Biray Avcı C, Vardar R, Aydemir S, *et al.* Investigation of *Dientamoeba fragilis* Prevalence and Evaluation of Sociodemographic and Clinical Features in Patients with Gastrointestinal Symptoms. *Acta Parasitol*. 2019;64(1):162-170.

79. Bruijnesteijn van Coppenraet LES, Wallinga JA, Ruijs GJHM, Bruins MJ, Verweij JJ. Parasitological diagnosis combining an internally controlled real-time PCR assay for the detection of four protozoa in stool samples with a testing algorithm for microscopy. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(9):869-874.
80. Calderaro A, Gorrini C, Montecchini S, Peruzzi S, Piccolo G, Rossi S, *et al.* Evaluation of a real-time polymerase chain reaction assay for the detection of *Dientamoeba fragilis*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2010;67(3):239-245.
81. Clemente L, Pasut M, Carlet R, Ruscio M, Fontana F. *Dientamoeba fragilis* in the North-East of Italy: Prevalence study and treatment. *Parasitol Int.* 2021;80:102227.
82. Incani RN, Ferrer E, Hoek D, Ramak R, Roelfsema J, Mughini-Gras L, *et al.* Diagnosis of intestinal parasites in a rural community of Venezuela: Advantages and disadvantages of using microscopy or RT-PCR. *Acta Trop.* 2017;167:64-70.
83. Jokelainen P, Jensen BH, Andreassen BU, Petersen AM, Röser D, Krogfelt KA, *et al.* *Dientamoeba fragilis*, a commensal in children in Danish day care centers. *J Clin Microbiol.* 2017;55(6):1707-1713.
84. Julio C, Furtado C, Rocha R, Escobar C, Brito MJ, Oleastro M. Detection of *Dientamoeba fragilis* in Portuguese children with acute gastroenteritis between 2011 and 2013. *Parasitology.* 2015;142(11):1398-1403.
85. Maas L, Dorigo-Zetsma JW, de Groot CJ, Bouter S, Plötz FB, van Ewijk BE. Detection of intestinal protozoa in paediatric patients with gastrointestinal symptoms by multiplex real-time PCR. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(6):545-550.
86. Yakoob J, Jafri W, Beg MA, Abbas Z, Naz S, Islam M, *et al.* *Blastocystis hominis* and *Dientamoeba fragilis* in patients fulfilling irritable bowel syndrome criteria. *Parasitol Res.* 2010;107(3):679-684.
87. Ögren J, Dienus O, Löfgren S, Einemo IM, Iveroth P, Matussek A. *Dientamoeba fragilis* prevalence coincides with gastrointestinal symptoms in children less than 11 years old in Sweden. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2015;34(10):1995-1998.
88. Ögren J, van Nguyen S, Nguyen MK, Dimberg J, Matussek A. Prevalence of *Dientamoeba fragilis*, *Giardia duodenalis*, *Entamoeba histolytica/dispar*, and *Cryptosporidium* spp in Da Nang, Vietnam, detected by a multiplex real-time PCR. *APMIS.* 2016;124(6):529-533.

89. Osman M, el Safadi D, Cian A, Benamrouz S, Nourrisson C, Poirier P, *et al.* Prevalence and Risk Factors for Intestinal Protozoan Infections with *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Blastocystis* and *Dientamoeba* among Schoolchildren in Tripoli, Lebanon. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016;10(3):e0004496.
90. Röser D, Simonsen J, Nielsen H v., Stensvold CR, Mølbak K. *Dientamoeba fragilis* in Denmark: Epidemiological experience derived from four years of routine real-time PCR. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013;32(10):1303-1310.
91. Sarafraz S, Farajnia S, Jamali J, Khodabakhsh F, Khanipour F. Detection of *Dientamoeba fragilis* among diarrheal patients referred to Tabriz health care centers by nested PCR. *Trop Biomed.* 2013;30(1):113-118.
92. Stark D, Al-Qassab SE, Barratt JLN, Stanley K, Roberts T, Marriott D, *et al.* Evaluation of multiplex tandem real-time PCR for Detection of *Cryptosporidium* spp., *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba histolytica*, and *Giardia intestinalis* in clinical stool samples. *J Clin Microbiol.* 2011;49(1):257-262.
93. Stensvold CR, Arendrup MC, Mølbak K, Nielsen H v. The prevalence of *Dientamoeba fragilis* in patients with suspected enteroparasitic disease in a metropolitan area in Denmark. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13(8):839-842.
94. Norberg A, Nord CE, Evengård B. *Dientamoeba fragilis* - A protozoal infection which may cause severe bowel distress. *Clin Microbiol Infect.* 2003;9(1):65-68.
95. Grendon JH, DiGiacomo RF, Frost FJ. Descriptive features of *Dientamoeba fragilis* infections. *J Trop Med Hyg.* 1995;98(5):309-315.
96. Cerva L, Schrottenbaum M, Kliment V. Intestinal parasites: a study of human appendices. *Folia Parasitol (Praha).* 1991;38(1):5-9.
97. Schure JM, de Vries M, Weel JF, van Roon EN, Faber TE. Symptoms and treatment of *Dientamoeba fragilis* infection in children, a retrospective study. *Pediatr Infect Dis J.* 2013;32(4):e148-e150.
98. Gray TJ, Kwan YL, Phan T, Robertson G, Cheong EYL, Gottlieb T. *Dientamoeba fragilis*: A family cluster of disease associated with marked peripheral eosinophilia. *Clin Infect Dis.* 2013;57(6):845-848.

99. Engsbro AL, Stensvold CR, Nielsen HV, Bytzer P. Prevalence, incidence, and risk factors of intestinal parasites in Danish primary care patients with irritable bowel syndrome. *Scand J Infect Dis*. 2014;46(3):204-209.
100. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. *Dientamoeba fragilis* as a cause of travelers' diarrhea: Report of seven cases. *J Travel Med*. 2007;14(1):72-73.
101. Cuffari C, Oligny L, Seidman EG. *Dientamoeba fragilis* masquerading as allergic colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1998;26(1):16-20.
102. Esteghamati A, Khanaliha K, Bokharaei-Salim F, Sayyahfar S, Ghaderipour M. Prevalence of intestinal parasitic infection in cancer, organ transplant and primary immunodeficiency patients in Tehran, Iran. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2019;20(2):495-501.
103. El-Gayar EK, Mokhtar AB, Hassan WA. Study of the pathogenic potential of *Dientamoeba fragilis* in experimentally infected mice. *Parasite Epidemiol Control*. 2016;1(2):136-142.
104. de Jong MJ, Kortering JJ, Benninga MA, Hilbink M, Widdershoven J, Deckers-Kocken JM. *Dientamoeba fragilis* and chronic abdominal pain in children: a case-control study. *Arch Dis Child*. 2014;99(12):1109-1113.
105. Shein R, Gelb A. Colitis due to *Dientamoeba fragilis*. *Am J Gastroenterol*. 1983;78(10):634-636.
106. Ockert G, Schulz U. Pathogenetic role of *Dientamoeba fragilis*. *Dtsch Gesundheitsw*. 1972;27(25):1156-1158.
107. Burrows RB, Swerdlow MA, Frost JK, Leeper CK. Pathology of *Dientamoeba fragilis* infections of the appendix. *Am J Trop Med Hyg*. 1954;3(6):1033-1039.
108. Aykur M, Armagan G, Vardar R, Dagci H. Fecal calprotectin as a factor that supports the pathogenicity of *Dientamoeba fragilis*. *Microb Pathog*. 2020;139:103868.
109. van Kalleveen MW, Budding AE, Benninga MA, Savelkoul PHM, van Gool T, van Maldeghem I, et al. Intestinal Microbiota in Children With Symptomatic *Dientamoeba fragilis* Infection A Case-control Study. *Pediatr Infect Dis J*. 2021;40(4):279-283.
110. Hawash YA, Ismail KA, Saber T, Eed EM, Khalifa AS, Alsharif KF, et al. *Dientamoeba fragilis* infection in patients with digestive and non-digestive symptoms: A case-control study. *Korean J Parasitol*. 2020;58(2):129-134.

111. de Boer MD, Schuurs TA, Vermeer M, Ruijs GJHM, van der Zanden AGM, Weel JF, *et al.* Distribution and relevance of *Dientamoeba fragilis* and *Blastocystis* species in gastroenteritis: results from a case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020;39(1):197-203.
112. Kurt Ö, Okullu SÖ, Özen NM, Ünübol N, Cat S, Sürer Nurdağı S, *et al.* Is *Dientamoeba fragilis* a Friend or a Foe? A Study from Istanbul on Patients and Healthy Individuals from Different Cohorts. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2020;50(4):244-249.
113. van Gestel RSFE, Kusters JG, Monkelbaan JF. A clinical guideline on *Dientamoeba fragilis* infections. *Parasitology.* 2019;146(9):1131-1139.
114. Miguel L, Salvador F, Sulleiro E, Sánchez-Montalvá A, Molina-Morant D, López I, *et al.* Clinical and Epidemiological Characteristics of Patients with *Dientamoeba fragilis* Infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2018;99(5):1170-1173.
115. Preiss U, Ockert G, Broemme S, Otto A. On the clinical importance of *Dientamoeba fragilis* infections in childhood. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol.* 1991;35(1):27-34.
116. Vandenberg O, Peek R, Souayah H, Dediste A, Buset M, Scheen R, *et al.* Clinical and microbiological features of dientamoebiasis in patients suspected of suffering from a parasitic gastrointestinal illness: A comparison of *Dientamoeba fragilis* and *Giardia lamblia* infections. *Int J Infect Dis.* 2006;10(3):255-261.
117. Banik GR, Barratt JLN, Marriott D, Harkness J, Ellis JT, Stark D. A case-controlled study of *Dientamoeba fragilis* infections in children. *Parasitology.* 2011;138(7):819-823.
118. Stark DJ, Beebe N, Marriott D, Ellis JT, Harkness J. Dientamoebiasis: Clinical importance and recent advances. *Trends Parasitol.* 2006;22(2):92-96.
119. Spencer MJ, Chapin MR, Garcia LS. *Dientamoeba fragilis*: A Gastrointestinal Protozoan Infection in Adults. *Am J Gastroenterol.* 1982;77(8):565-569.
120. Pietilä JP, Meri T, Siikamäki H, Tyyni E, Kerttula AM, Pakarinen L, *et al.* *Dientamoeba fragilis* – the most common intestinal protozoan in the Helsinki metropolitan area, Finland, 2007 to 2017. *Euro Surveill.* 2019;24(29):1800546.
121. Wong ZW, Faulder K, Robinson JL. Does *Dientamoeba fragilis* cause diarrhea? A systematic review. *Parasitol Res.* 2018;117(4):971-980.

122. Vandenberg O, Souayah H, Mouchet F, Dediste A, van Gool T. Treatment of *Dientamoeba fragilis* infection with paromomycin. *Pediatr Infect Dis J*. 2007;26(1):88-90.
123. Spencer MJ, Garcia LS, Chapin MR. *Dientamoeba fragilis*: An Intestinal Pathogen in Children? *Am J Dis Child*. 1979;133(4):390-393.
124. Butler WP. *Dientamoeba fragilis*: An unusual intestinal pathogen. *Dig Dis Sci*. 1996;41(9):1811-1813.
125. Bosman DK, Benninga MA, van de Berg P, Kooijman GC, van Gool T. [*Dientamoeba fragilis*: possibly an important cause of persistent abdominal pain in children]. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2004;148(12):575-579.
126. Röser D, Simonsen J, Stensvold CR, Olsen KE, Bytzer P, Nielsen H, Mølbak K. Metronidazole therapy for treating dientamoebiasis in children is not associated with better clinical outcomes: a randomized, double-blinded and placebo-controlled clinical trial. *Clin Infect Dis*. 2014;58(12):1692-1699.
127. Yakoob J, Jafri W, Jafri N, Khan R, Islam M, Beg MA, et al. Irritable bowel syndrome: the need to exclude *Dientamoeba fragilis*. *Am J Trop Med Hyg*. 2005;72(5):501-502.
128. Engsbro AL, Stensvold CR, Nielsen HV, Bytzer P. Treatment of *Dientamoeba fragilis* in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Trop Med Hyg*. 2012;87(6):1046-1052.
129. Salem AI, El-Taweel HA, Madkour MA, Abd El-Latif NF, Abd-Elrazeq ES. Irritable bowel syndrome in Egyptian patients: plausible risk factors and association with intestinal protozoa. *Trop Doct*. 2019;49(3):184-188.
130. Shariati A, Fallah F, Pormohammad A, et al. The possible role of bacteria, viruses, and parasites in initiation and exacerbation of irritable bowel syndrome. *J Cell Physiol*. 2019;234(6):8550-8569.
131. Stark D, van Hal S, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Irritable bowel syndrome: A review on the role of intestinal protozoa and the importance of their detection and diagnosis. *Int J Parasitol*. 2007;37(1):11-20.
132. Yang J, Scholten T. A fixative for intestinal parasites permitting the use of concentration and permanent staining procedures. *Am J Clin Pathol*. 1977;67(3):300-304.

133. Vezir S, Kaya F, Vezir E, Karaosmanoğlu N, Adiloğlu AK. Evaluation of intestinal parasites in patients with chronic spontaneous urticaria in a territory hospital in Turkey. *J Infect Dev Ctries*. 2019;13(10):927-932.
134. Talis B, Stein B, Lengy J. *Dientamoeba fragilis* in human feces and bile. *Isr J Med Sci*. 1971;7(9):1063-1069.
135. Schwartz MD, Nelson ME. *Dientamoeba fragilis* infection presenting to the emergency department as acute appendicitis. *J Emerg Med*. 2003;25(1):17-21.
136. Stark D, Beebe N, Marriott D, Ellis J, Harkness J. Evaluation of three diagnostic methods, including real-time PCR, for detection of *Dientamoeba fragilis* in stool specimens. *J Clin Microbiol*. 2006;44(1):232-235.
137. Ockert G. Symptomatology, Pathology, Epidemiology, and Diagnosis of *Dientamoeba fragilis*. En: B.M. Honinberg. *Trichomonads Parasitic in Humans*. Springer publications. New York: Springer Publications;1990. p. 394-410.
138. Chan FTH, Ming Xu Guan, Mackenzie AMR. Application of indirect immunofluorescence to detection of *Dientamoeba fragilis* trophozoites in fecal specimens. *J Clin Microbiol*. 1993;31(7):1710-1714.
139. Stark D, Barratt J, Roberts T, Marriott D, Harkness J, Ellis J. Comparison of microscopy, two xenic culture techniques, conventional and real-time PCR for the detection of *Dientamoeba fragilis* in clinical stool samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010;29(4):411-416.
140. Gough R, Ellis J, Stark D. Comparison and recommendations for use of *Dientamoeba fragilis* real-time PCR assays. *J Clin Microbiol*. 2019;57(5):e04166-18.
141. Wheatley WB. A rapid staining procedure for intestinal amoebae and flagellates. *Am J Clin Pathol*. 1951;21(10):990-991.
142. Ragavan AD, Govind SK. Modified fields' stain: ideal to differentiate *Dientamoeba fragilis* and *Blastocystis* sp. *Parasitol Res*. 2015;114(3):1163-1166.
143. Clark CG, Diamond LS. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15(3):329-341.
144. Robinson GL. The laboratory diagnosis of human parasitic amoebae. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1968;62(2):285-294.

145. Cleveland LR, Collier J. Various improvements in the cultivation of *Entamoeba histolytica*. *Am J Epidemiol*. 1930;12(3):606-613.
146. Diamond LS. A new liquid medium for xenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other lumen-dwelling protozoa. *J Parasitol*. 1982;68(5):958-959.
147. Barratt JL, Banik GR, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. Newly defined conditions for the in vitro cultivation and cryopreservation of *Dientamoeba fragilis*: New techniques set to fast track molecular studies on this organism. *Parasitology*. 2010;137(13):1867-1878.
148. Menu E, Mary C, Toga I, Raoult D, Ranque S, Bittar F. A hospital qPCR-based survey of 10 gastrointestinal parasites in routine diagnostic screening, Marseille, France. *Epidemiol Infect*. 2019;147:e100.
149. Autier B, Gangneux JP, Robert-Gangneux F. Evaluation of the allplexTM gastrointestinal panel-parasite assay for protozoa detection in stool samples: A retrospective and prospective study. *Microorganisms*. 2020;8(4):565.
150. Dirani G, Zannoli S, Paesini E, Farabegoli P, Dalmo B, Vocale C, et al. EasyscreenTM enteric protozoa assay for the detection of intestinal parasites: A retrospective Bi-center study. *J Parasitol*. 2019;105(1):58-63.
151. Stark D, Roberts T, Ellis JT, Marriott D, Harkness J. Evaluation of the EasyScreenTM Enteric Parasite Detection Kit for the detection of *Blastocystis* spp., *Cryptosporidium* spp., *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba* complex, and *Giardia intestinalis* from clinical stool samples. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;78(2):149-152.
152. Croxatto A, Prod'hom G, Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *FEMS Microbiol Rev*. 2012;36(2):380-407.
153. Calderaro A, Buttrini M, Montecchini S, Rossi S, Piccolo G, Arcangeletti MC, et al. MALDI-TOF MS as a new tool for the identification of *Dientamoeba fragilis*. *Parasit Vectors*. 2018;11(1):11.
154. van Hellemond JJ, Molhoek N, Koelewijn R, Wismans PJ, van Genderen PJJ. Is paromomycin the drug of choice for eradication of *Dientamoeba fragilis* in adults? *Int J Parasitol Drugs Drug Resist*. 2012;2:162-165.

-
155. Kurt Ö, Girginkardeşler N, Balcioglu IC, Qzibilgin A, Ok ÜZ. A comparison of metronidazole and single-dose ornidazole for the treatment of dientamoebiasis. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(6):601-604.
156. Dardick KR. Tetracycline treatment of *Dientamoeba fragilis*. *Conn Med.* 1983;47(2):69-70.
157. Nagata N, Marriott D, Harkness J, Ellis JT, Stark D. Current treatment options for *Dientamoeba fragilis* infections. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 2012;2:204-215.
158. Chopra I, Roberts M. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2001;65(2):232-260.
159. Davidson RN, den Boer M, Ritmeijer K. Paromomycin. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2009;103(7):653-660.
160. Muñoz Batet C, López-Vélez R. Capítulo 10: Medicamentos antiparasitarios. En: Ausina Ruiz V, Moreno Guillén S. Tratado SEMIC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 1ª ed. Buenos Aires- Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2005. p. 139-151.
161. Baumgartner G, Gilland O, Kaeser HE, Pallis CA, Rose FC, Schaumburg HH, et al. Neurotoxicity of halogenated hydroxyquinolines. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1984;47(1):100.
162. van Hunsel F, van Nieuwkoop C, Stricker BHC. [Clioquinol use for *Dientamoeba fragilis* infections is questionable]. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2017;161:D1477.
163. Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39(3):577-585.
164. Hansen MP, Scott AM, Mccullough A, Thorning S, Aronson JK, Beller EM, et al. Adverse events in people taking macrolide antibiotics versus placebo for any indication. *Cochrane Database of Syst Rev.* 2019;1(1):CD011825.
165. Moreno SNJ, Docampo R. Mechanism of toxicity of nitro compounds used in the chemotherapy of trichomoniasis. *Environ Health Perspect.* 1985;64:199-208.
166. Löfmark S, Edlund C, Nord CE. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clin Infect Dis.* 2010;50 Suppl 1:S16-S23.
-

167. Gupta YK, Gupta M, Aneja S, Kohli K. Current Drug Therapy of Protozoal Diarrhoea. *Indian J Pediatr.* 2004;71(1):55-58.
168. Singh N, Narayan S. Nitazoxanide: A broad spectrum antimicrobial. *Med J Armed Forces India.* 2011;67(1):67-68.
169. Lokhande AS, Devarajan PV. A review on possible mechanistic insights of Nitazoxanide for repurposing in COVID-19. *Eur J Pharmacol.* 2021;891:173748.
170. Hemphill A, Mueller J, Esposino M. Nitazoxanide, a broad-spectrum thiazolide anti-infective agent for the treatment of gastrointestinal infections. *Expert Opin Pharmacother.* 2006;7(7):953-964.
171. Kingston-Smith H, Gunaratne AW, Clancy A, Wettstein AR, Borody TJ. Sa1904 efficacy of anti-parasitic treatment for *Blastocystis hominis* and *Dientamoeba fragilis* by colonic infusion in patients who failed prior treatments: a medical record review. *Gastroenterology.* 2020;158(6):S-473.
172. Roshan N, Clancy A, Gunaratne AW, LeBusque A, Pilarinos D, Borody TJ. Two-day enema antibiotic therapy for parasite eradication and resolution of symptoms. *World J Gastroenterol.* 2020;26(26):3792-3799.
173. van Kalleveen MW, van Gool T, Klarenbeek N, Benninga MA, Savelkoul PHM, de Meij T, et al. *Dientamoeba fragilis* in children: a systematic review on diagnostic considerations and efficacy of treatment. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2020;14(4):231-242.
174. Intra J, Sarto C, Besana S, Tiberti N, Brambilla P. The importance of considering the neglected intestinal protozoan parasite *Dientamoeba fragilis*. *J Med Microbiol.* 2019;68(6):890-892.
175. Barratt JLN, Harkness J, Marriott D, Ellis JT, Stark D. A review of *Dientamoeba fragilis* carriage in humans: Several reasons why this organism should be considered in the diagnosis of gastrointestinal illness. *Gut Microbes.* 2011;2(1):3-12.
176. Ungar BLP, Yolken RH, Nash TE, Quinn TC. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of *Giardia lamblia* in Fecal Specimens. *J Infect Dis.* 1984;149(1):90-97.
177. Sterling CR, Arrowood MJ. Detection of *Cryptosporidium* sp. infections using a direct immunofluorescent assay. *Pediatr Infect Dis.* 1986;5(1 Suppl):S139-S142.

178. Blessmann J, Buss H, Nu PA, Dinh BT, Ngo QT, Van AL, *et al.* Real-Time PCR for detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in fecal samples. *J Clin Microbiol.* 2002;40(12):4413-4417.

ANEXOS

ANEXO 1

PROTOCOLO DE ESTUDIO *DIENTAMOEBIA FRAGILIS*

Tipo de paciente: Caso índice / Contacto / Control

1. Características demográficas:

Número Identificación:

Sexo: V M

Edad (al diagnóstico):

Autóctono: Si No / Inmigrante: Si (País de origen:____, tiempo en España____) No

Estudio de contactos: Si No *En caso afirmativo: *D. fragilis* (en contactos): Si No

2. Características epidemiológicas/ Factores de riesgo:

Antecedente de viaje (12 meses previos): Si (Destino:____, tiempo tras viaje:____) No

Animales: Si No

Residencia en zona rural: Si No

Convivientes de edad ≤ 14 años: Si No

3. Características clínicas:

Asintomáticos: Si No

Dolor abdominal: Si No

Diarrea aguda: Si No

Diarrea crónica: Si No

Prurito: Si (*Especificar: cutáneo o anal) No

Otros síntomas:

Distensión abdominal, náuseas, vómitos, clínica cutánea, astenia, anorexia, pérdida de peso, otros (especificar: _____)

Duración de los síntomas (días): _____

Motivo de consulta:

Dolor abdominal, diarrea, fiebre, problemas cutáneos, eosinofilia, cribado, razones epidemiológicas, otros (especificar: _____)

4. Pruebas complementarias:

Eosinofilia: Si No *En caso afirmativo: cifra _____

Alteración bioquímica sanguínea: Si (Especificar: _____) No

Amebas: Si (*Entamoeba* spp., *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, otras...) No

Blastocystis spp.: Si No

Strongyloides stercoralis: Si No

Giardia duodenalis: Si No

5. Diagnóstico:

Dientamoeba fragilis: Si (Fecha PCR positiva: _____) No

Test de Graham: Si No *En caso afirmativo: Infección por *E. vermicularis*: Si No

E. vermicularis en convivientes: Si No

6. Tratamiento:

Tratamiento 1ª línea: Si No / Metronidazol: Si No / Paromomicina: Si No

Tratamiento 2ª línea: Si No / Metronidazol: Si No / Paromomicina: Si No

En caso de coinfección por *E. vermicularis*: Mebendazol: Si No

7. Evolución:

Control a las 4 semanas: Si No / *D. fragilis*: Si No / *E. vermicularis*: Si No

Desaparición de los síntomas a las 4 semanas: Si No

8. Otros datos de interés:

ANEXO 2



SERVICIO DE SALUD
DEL PRINCIPADO DE ASTURIAS

Comité de Ética de la Investigación
del Principado de Asturias
Avd. De Roma s/n
33011 Oviedo
Tfno: 985107927/985108028
e-mail: celcr_asturias@hca.es

Oviedo, 08 de Agosto de 2018

El Comité de Ética de la Investigación del Principado de Asturias ha evaluado el Estudio nº 204/17, titulado: "CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS DE LA INFECCIÓN POR DIENTAMOEBIA FRAGILIS". Investigadora Principal Dra. Candela Menéndez Fernández-Miranda del S. de M. Interna. Tesis Doctoral.

El Comité ha tomado el acuerdo de considerar que el citado estudio reúne las condiciones éticas necesarias para poder realizarse y, en consecuencia, emite su autorización.

Le recuerdo que deberá guardar la máxima confidencialidad de los datos utilizados en este estudio, les aconsejamos que el Consentimiento Informado se firme por duplicado y el Investigador guarde una copia en el archivo.

Le saluda atentamente,

Fdo: Mauricio Telenti Asensio
Secretario del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos
del Principado de Asturias



