

Proyecto N° PI-09-8237-2011

## **Estandarización de la técnica PER-RFLP para la caracterización molecular de genotipos de *Blastocystis* spp en muestras de heces humanas**

Responsable: Vethencourt de Gangi, María Alejandra

Etapas cumplidas / Etapas totales 2/2

Especialidad: Parasitología

**Resumen:** *Blastocystis* spp es el único Stramenopile (Sts) que parasita el intestino humano. En el humano se han reportado los Sts 1 al 9, algunos asociados con la producción de síntomas. Este proyecto se pretende estandarizar la PCR-RFLP con el fin de caracterizar genéticamente los Sts de *Blastocystis* spp, en muestras de heces humanas. Para la estandarización se procesaron 63 muestras: 33 de heces totales (HT), 22 de heces lavadas (HL) y 8 sedimentos de cultivos en Boeck-Drhohlav-modificado lavados (CL). El ADN se extrajo mediante 3 métodos: Wizard®, Wizard Genomic® y DNAzol®. La PCR se estandarizó para amplificar la sub-unidad ribosomal 18S, según los protocolos descritos en la literatura. El RFLP se estandarizó con las enzimas *Hinf* I y *Rsa* I, en 20 amplificadas con mayor rendimiento. Para establecer si existe relación entre determinados subtipos y presencia o ausencia de síntomas gastrointestinales, se admitieron en el estudio 52 pacientes, con diagnóstico de *Blastocystis* spp solo o en combinación de protozoarios comensales. Como resultados se encuentra que a partir de (CL) y 22 heces lavadas (HL) con Wizard® se obtuvo el ADN más puro y menos degradado. La PCR de 1780 pb tuvo una sensibilidad de 0,3125 ng/mL de ADN y detectó un *Blastocystis*. La especificidad fue de 62,5% y 100% para la PCR de 1780 y 310 pb, respectivamente. En PCR de 1780 pb, de los productos inespecíficamente amplificados, no coincidió con ninguno de los polimorfismos para los Sts citados por Yoshikawa *et al.* (2000), validando su utilización. Mediante la aplicación PCR-RFLP, de los 52 pacientes con o sin sintomatología, el 54% (28/52) de los pacientes manifestaron presentar algún signo o síntoma intestinal, siendo la diarrea, el dolor estomacal y los gases los signos y síntomas igualmente predominantes y significativamente mayores que el estreñimiento. El 88,5% (46/52) de los pacientes tenían un subtipo de *Blastocystis*, proporcionalmente mayor a aquellos con la mezcla de dos subtipos 11,5% (6/52; p L 0,001). Se identificó perfiles de digestión compatibles con el St1, St3 y St4. Se observó una tendencia a una mayor frecuencia del St1 en pacientes CS y a una mayor frecuencia de St3 en pacientes SS. La estandarización de las técnicas moleculares como la PCRRFLP para la caracterización molecular de *Blastocystis*, abre un portal al estudio molecular del *Blastocystis*.

**Productos**

**Otros**

**Trabajo de Ascenso** a la categoría de Asistente de la responsable, “Estandarización de PCR-RFLP para la caracterización molecular de genotipos de *Blastocystis* spp en muestras de heces humanas”, 2014.

**Trabajo de Ascenso** a la categoría de Agregado de la responsable “Aspectos morfológicos y moleculares de *Blastocystis* spp como criterios para la modificación del reporte”, 2016.

**Trabajo de investigación**

Diana Alvarado, y Kristle Vásquez, “Caracterización morfológica, biológica y molecular de *Blastocystis* spp. en la comunidad de la Escuela de Bioanálisis, de la UCV”, 2014.