

# *Blastocystis*: estudio coproparasitológico, clínico-epidemiológico y de prevalencia de subtipo 3 en pacientes de hospitales de Bahía Blanca, Argentina

- Elena Concepción Visciarelli<sup>1a\*</sup>, Norma Esther Basabe<sup>2a</sup>, Dina Pedersen<sup>3a,b</sup>, Viviana Rosa Randazzo<sup>1a</sup>, Leandro Damián Lucchi<sup>2a</sup>, Juan Ignacio Muñoz<sup>4a</sup>, Sandra Cecilia Abicht<sup>5a,b</sup>, Marcelo Rinaldo Occhionero<sup>6a,b</sup>

<sup>1</sup> Bioquímica. Dra. en Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica, Área Parasitología.

<sup>2</sup> Bioquímica/o. Especialista en Bioquímica Clínica, Área Parasitología.

<sup>3</sup> Bioquímica. Magister en Micología Médica.

<sup>4</sup> Bioquímico.

<sup>5</sup> Bioquímica. Especialista en control de calidad de los alimentos.

<sup>6</sup> Bioquímico. Dr. en Bioquímica.

<sup>a</sup> Cátedra de Parasitología Clínica. Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur, San Juan 670. (8000) Bahía Blanca, Argentina.

<sup>b</sup> Cátedra de Bacteriología y Micología, Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur, San Juan 670. (8000) Bahía Blanca, Argentina.

\* Autora para correspondencia.

## Resumen

*Blastocystis* es el parásito unicelular del intestino del hombre y de otros animales más prevalente en seres humanos. Presenta gran variedad genética con múltiples subtipos (ST). Aunque se ha asociado a desórdenes intestinales y extraintestinales, su patogenicidad es discutida. Se analizaron 461 muestras de materia fecal de pacientes sintomáticos (n=380) y asintomáticos (n=81) de hospitales de Bahía Blanca, Argentina; se solicitó consentimiento informado y se completó una ficha epidemiológica. Se realizaron análisis coproparasitológicos, morfometría, recuento y tipificación de *Blastocystis* ST3 por PCR. La población fue: 57,3% de sexo femenino y 42,7% masculino. La prevalencia de *Blastocystis* fue de 31% y de *Blastocystis* ST3 62%. Se hallaron formas vacuolares, granulares y quísticas; las vacuolares fueron las más frecuentes. En el 64,8% de las muestras los *Blastocystis* fueron pequeños y escasos. El 88,4% de los pacientes sintomáticos presentó trastornos gastrointestinales, el 4% urticaria y el 7,6% fiebre, anemia y bajo peso. El 66,7% de los pacientes con urticaria presentó *Blastocystis*. La presencia de síntomas se asoció significativamente con *Blastocystis* ( $p<0,002$ ). No se hallaron asociaciones estadísticas entre *Blastocystis*, la edad, el sexo, la disponibilidad de agua potable, de cloacas y el contacto con animales. Dentro de los síntomas sólo se encontró asociación estadística de *Blastocystis* con urticaria ( $p<0,007$ ). No hubo asociación entre *Blastocystis* ST3 y sintomatología. Los resultados destacan la alta prevalencia de *Blastocystis* y de *Blastocystis* ST3, la necesidad de hacer un coproparasitológico minucioso, su asociación estadística con urticaria y la importancia de no ignorarlo en el proceso salud-enfermedad.

**Palabras clave:** *Blastocystis* spp.; *Blastocystis* ST3; Análisis coproparasitológico; Prevalencia; Urticaria; Bahía Blanca; Argentina

*Blastocystis*: coproparasitological, clinical-epidemiological and prevalence study of subtype 3 in patients from hospitals in Bahía Blanca, Argentina

## Abstract

*Blastocystis* is the unicellular parasite of the intestine of man and other animals, most prevalent in humans. It has a great genetic variety with multiple

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

subtypes (ST). Although it has been associated with intestinal and extraintestinal disorders, its pathogenicity remains unclear. Four hundred and sixty one stool samples from symptomatic ( $n=380$ ) and asymptomatic ( $n=81$ ) patients from hospitals in Bahía Blanca, Argentina were analysed; informed consent was requested and an epidemiological file was completed. Coproparasitological analysis, morphometry, counting and typing of *Blastocystis* ST3 were performed by PCR. The population was: 57.3% female and 42.7% male. The prevalence of *Blastocystis* was 31.0% and that of *Blastocystis* ST3 62%. Vacuolar, granular and cystic forms were found, with vacuolar forms being the most frequent. *Blastocystis* were small and scarce in 64.8% of the samples. Most of the symptomatic patients (88.4%) presented gastrointestinal disorders, urticaria 4% and fever, anemia and low weight 7.6%; 66.7% of the urticaria patients presented *Blastocystis*. The presence of symptoms was significantly associated with *Blastocystis* ( $p<0.002$ ). No statistical associations were found between *Blastocystis*, age, sex, availability of drinking water, sewage, and contact with animals. Within the symptoms, only statistical association of *Blastocystis* with urticaria was found ( $p<0.007$ ). There was no association between *Blastocystis* ST3 and symptomatology. The results highlight the high prevalence of *Blastocystis* and *Blastocystis* ST3, the need for a thorough coproparasitology, their statistical association with urticaria and the importance of not ignoring it in the health-disease process.

**Keywords:** *Blastocystis* spp.; *Blastocystis* ST3; Coproparasitological analysis; Prevalence; Urticaria; Bahía Blanca; Argentina

### *Blastocystis: estudo coproparasitológico, clínico-epidemiológico e de prevalência do subtipo 3 em pacientes de hospitais em Bahía Blanca, Argentina*

#### **Resumo**

*Blastocystis* é o parasita unicelular do intestino do homem e outros animais, mais prevalente em seres humanos. Apresenta grande variedade genética com múltiplos subtipos (ST). Embora tenha sido associada a distúrbios intestinais e extraintestinais, sua patogenicidade é debatida. Foram analisadas 461 amostras de fezes de pacientes sintomáticos ( $n=380$ ) e assintomáticos ( $n=81$ ) de hospitais de Bahía Blanca, Argentina; foi solicitado consentimento informado e preenchida uma ficha epidemiológica. Foram realizadas análises coproparasitológicas, morfometria, contagem e tipificação de *Blastocystis* ST3 por PCR. A população era: 57,3% sexo feminino e 42,7% masculino. A prevalência de *Blastocystis* foi de 31,0% e de *Blastocystis* ST3 62%. Foram encontradas formas vacuolares, granulares e císticas, sendo as vacuolares as mais frequentes. Em 64,8% das amostras, os *Blastocystis* foram pequenos e escassos; 88,4% dos pacientes sintomáticos apresentaram distúrbios gastrointestinais, 4% urticária e 7,6% febre, anemia e baixo peso; 66,7% dos pacientes com urticária apresentaram *Blastocystis*. A presença de sintomas foi associada significativamente com *Blastocystis* ( $p<0,002$ ). Não foram encontradas associações estatísticas entre *Blastocystis*, a idade, sexo, a disponibilidade de água potável, de esgoto e o contato com animais. Dentro dos sintomas, só foi encontrada associação estatística de *Blastocystis* com urticária ( $p<0,007$ ). Não houve associação entre *Blastocystis* ST3 e sintomatologia. Os resultados destacam a alta prevalência de *Blastocystis* e *Blastocystis* ST3, a necessidade de fazer um coproparasitológico minucioso, sua associação estatística com urticária e a importância de não ignorá-lo no processo saúde-doença.

**Palavras-chave:** *Blastocystis* spp.; *Blastocystis* ST3; Análise coproparasitológica; Prevalência; Urticária; Bahía Blanca; Argentina

## Introducción

*Blastocystis* es el parásito unicelular intestinal más prevalente en seres humanos (1), pero la importancia clínica de esta colonización generalizada no es clara y su potencial patogénico sigue siendo controvertido (2) (3). La presencia del parásito tanto en pacientes sintomáticos como asintomáticos, hace que se investigue su papel en la salud humana y en la enfermedad (2). *Blastocystis* es cosmopolita y además del hombre, parasita a

una gran variedad de vertebrados: animales de granja, aves, roedores, reptiles y otros animales (1) (2) (4). El ciclo de vida aún se discute (5), pero se estima que es análogo al de los otros protozoarios intestinales, con una forma quística resistente, adecuada para la transmisión fecal-oral y con otras formas parasitarias, una de ellas trófica, que se replica por fisión binaria (1). Se considera que la principal vía de transmisión es a través del consumo de alimentos y/o agua contaminados con materia fecal humana o de animales con quistes de

*Blastocystis* (6). Dado que los quistes son resistentes al cloro a la concentración estándar utilizada en la potabilización (7), existe riesgo de transmisión por agua de bebida; por lo tanto, está incluido en las “Pautas para la Calidad del Agua Potable” de la Organización Mundial de la Salud. En un trabajo reciente en ocho plantas de tratamiento de aguas en Suecia, *Blastocystis* spp. y *Entamoeba moshkovskii* fueron detectadas en todas las muestras y fueron denominados como miembros universales del “microbioma de aguas residuales” (8).

La prevalencia de *Blastocystis* en países desarrollados varía entre 0,5 y 30% (9), y del 50 al 100% en países subdesarrollados (10). Prevalencias del 100% fueron publicadas en estudios en Senegal (11) y en la provincia de Guangdong en China (12). Los estudios realizados en países en vías de desarrollo apoyan que los datos de prevalencia de *Blastocystis* reflejarían las condiciones higiénico-sanitarias de las poblaciones (10) y las mayores prevalencias se asocian a bajos niveles de saneamiento y mayor contacto con animales. En la Argentina, los estudios publicados muestran una prevalencia general de *Blastocystis* del 34,7% en seres humanos, con una distribución heterogénea en el país (28,3% en la región occidental y 45,1% en el noreste) (13) (14).

Aunque *Blastocystis* se identificó hace más de un siglo, sigue siendo un enigma taxonómico. El uso de herramientas moleculares lo colocó en el *phylum* eucariota Heterokontophyta, pero no presenta flagelos como el resto de los Stramenofilos; por lo tanto, se planteó una revisión de la clasificación y en 2009, Irikov *et al.* (15) propusieron colocarlo en un sexto reino separado, llamado “Chromista”.

Sobre la base de sus variaciones en la subunidad pequeña del rARN (SSU-rARN) se ha demostrado una marcada diversidad genética dentro del género. En la actualidad, en los aislamientos realizados en mamíferos y aves se han determinado 26 subtipos (ST) de *Blastocystis* (16); entre ellos, ST1 a 9 y ST12 se han hallado en seres humanos y se consideran potencialmente zoonóticos (1). En relación con esta diversidad genética y de hospedadores, por consenso taxonómico, todas las especies deben informarse como *Blastocystis* spp. o *Blastocystis* seguido del subtipo correspondiente y el término *Blastocystis hominis* quedó en desuso (17).

Los seres humanos presentan con mayor frecuencia los ST1, 2, 3 y 4 y se ha demostrado que pueden ser colonizados por uno o más ST, algunos de los cuales se encuentran comúnmente en hospedadores no humanos, lo que reafirma su potencial zoonótico (3). En la Argentina, en pacientes sintomáticos y asintomáticos, se demostraron ST3 (71,6%) seguidos por ST1 (14,9%), ST6 (7,5%) y ST2 (5,9%) (13).

El hallazgo de *Blastocystis* en materia fecal se ha asociado a desórdenes intestinales: diarrea, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, síndrome de intestino irritable (18) y extraintestinales, como

autismo, urticaria y anemia (13) (19) (20) (21) (22). También se lo considera agente causal de blastocistosis (20), que se caracteriza por un conjunto de síntomas inespecíficos como dolor abdominal, diarrea y distensión abdominal.

Aunque muchas publicaciones apoyan el papel de *Blastocystis* como un patógeno emergente (20), no se ha podido demostrar su asociación específica con la enfermedad y por lo tanto su rol como agente etiológico sigue siendo especulativo (2) (3). Mientras que estudios recientes han identificado posibles factores de virulencia y efectos nocivos del parásito en la mucosa intestinal (23), otras investigaciones indicaron que la colonización de *Blastocystis* podría estar condicionada por una mayor diversidad de la microbiota bacteriana intestinal, la cual sería necesaria para que el parásito se establezca en el colon humano (1) (2) (24) (25).

Desde el punto de vista morfológico, se describen seis formas de *Blastocystis*: vacuolar, granular, ameboide, quística, avacuolar y multivacuolar (26) (27) donde la forma quística sería la infectante y la ameboide se asociaría con manifestaciones clínicas (19). El parásito también puede asumir morfologías extrañas en los cultivos (5) y puede ser difícil asignar una forma específica a una célula observada (26).

La identificación de *Blastocystis* en el análisis coproparasitológico se realiza por la observación microscópica de alguna de sus formas y la aplicación de coloraciones. La forma vacuolar, seguida por la granular, es la que se halla con más frecuencia, tanto en las muestras fecales como en los cultivos (26) (27). El cultivo y la PCR son dos métodos muy recomendados (28), pero no están disponibles en todos los laboratorios parasitológicos. La PCR en tiempo real sería la prueba más sensible y menos afectada por las variables inherentes a la conservación de la muestra (1).

El objetivo general del presente trabajo fue determinar la prevalencia de *Blastocystis* spp. en muestras fecales de pacientes ambulatorios, sintomáticos y asintomáticos, atendidos en hospitales públicos y privados de Bahía Blanca, Argentina y establecer las posibles correlaciones estadísticas entre su presencia y los datos clínico-epidemiológicos de la población estudiada. Los objetivos específicos fueron describir los tipos morfológicos de *Blastocystis* spp., evaluar la carga parasitaria, la frecuencia de presentación de los morfotipos y determinar la prevalencia de *Blastocystis* ST3.

## Materiales y Métodos

### Población

La población estudiada estuvo conformada por 461 pacientes provenientes de hospitales públicos y privados de la ciudad de Bahía Blanca, Argentina; 264 muje-

res y 197 hombres, con edades comprendidas entre 1 y 93 años y con una media de 22,9 años.

El Comité de Docencia e Investigación de cada centro asistencial autorizó el estudio y todos los participantes fueron debidamente instruidos acerca de sus derechos como pacientes, así como acerca de la confidencialidad de los datos y firmaron su consentimiento, de acuerdo a normas éticas internacionales (Declaración de Helsinki). Se completó una ficha epidemiológica para cada paciente. Los datos encuestados fueron: edad, sexo, contacto con animales, suministro de agua potable, servicio cloacal, enfermedades crónicas diagnosticadas y síntomas en el momento de la consulta.

Los pacientes se dividieron en grupos “asintomáticos” y “sintomáticos”. En este último se incluyeron individuos que presentaron signos y/o síntomas tanto intestinales como extraintestinales. La población considerada “asintomática” estuvo conformada por 81 pacientes que concurrieron a realizarse controles médicos de salud y aceptaron participar del presente trabajo. A cada uno se le solicitó una muestra seriada de materia fecal.

#### Análisis coproparasitológico, descripción morfológica y recuento de *Blastocystis* spp.

Las muestras remitidas de cada centro asistencial tenían indicaciones para análisis coproparasitológico (n=275), coprocultivo (n=149) y/o sangre oculta en materia fecal (n=37). En 27 pacientes la solicitud fue coproparasitológico y coprocultivo y en 3 coproparasitológico y sangre oculta; se analizaron todas las muestras, pero en estos casos se registraron como coproparasitológico considerándose una muestra por paciente, de lo que resulta el mismo número de pacientes y de muestras.

En el laboratorio de la cátedra de Parasitología Clínica de la Universidad Nacional del Sur se analizaron, de junio de 2016 a junio de 2019, todas las muestras remitidas. Las muestras de heces con indicación para análisis coproparasitológico fueron recolectadas en forma seriada durante 7 días y conservadas en SAF (acetato de sodio, ácido acético, formol y agua destilada). Al resto se les agregó SAF una vez ingresadas al laboratorio.

El análisis coproparasitológico se efectuó por examen microscópico directo sin concentrar y previo enriquecimiento por técnica de sedimentación de Ritchie. Se decidió aplicar este método de concentración ya que es muy utilizado en los laboratorios bioquímicos en nuestro medio.

Las muestras se observaron en preparación húmeda, y se aplicaron técnicas de coloración para resaltar las estructuras celulares: Lugol, Tricrómica, Azul de metileno, Kinyoun (para investigar coparasitismo con coccidios) y Tinta china (para destacar las formas quísticas de *Blastocystis*).

El recuento de *Blastocystis* por campo de 40X se estimó realizando la observación de una gota de 25 µL de

materia fecal entre porta y cubreobjetos. Se contaron los parásitos hallados en 100 campos microscópicos, distribuidos de la siguiente manera: 20 campos en cada uno de los cuatro extremos del cubreobjetos y 20 centrales. El recuento se realizó por duplicado. La carga parasitaria se valoró como: “escasa” con menos de una forma por campo, “regular”: 1 a 4 por campo y “abundante”: 5 o más por campo. El recuento se realizó en las muestras seriadas de materia fecal (n=90). Las formas se clasificaron morfológicamente empleando un microscopio Leica DM500 (*Leica Microsystems GmbH*, Wetzlar, Alemania), se fotografiaron con la cámara Leica ICC50 HD (*Leica Microsystems GmbH*, Wetzlar, Alemania), y se midieron con el *software* Leica LAS EZ (v3.2.1). Se consideraron grandes las formas de *Blastocystis*  $\geq 10$  µm y pequeñas  $< 10$  µm.

Los *Blastocystis* fueron caracterizados por las formas observadas, tamaños, carga parasitaria y frecuencia de presentación. La clasificación morfológica se realizó de acuerdo con los seis morfotipos establecidos.

#### Extracción de ADN y tipificación de *Blastocystis* ST3 por PCR

Alícuotas de 7 mL de materia fecal de cada muestra positiva para *Blastocystis*, fueron lavadas con agua destilada estéril en tubos de centrifuga. Se adicionaron 5 mL de agua, se agitó, se centrifugó durante 10 minutos a 3000 r.p.m. y se descartó el sobrenadante. El procedimiento se repitió 10 veces. Los sedimentos se reservaron para la extracción del material genómico (29). Se extrajo ADN genómico de las muestras de heces positivas para *Blastocystis* utilizando el *kit* de extracción *ZR Fecal DNA-ZYMO Research- Epigenetics Company*. El ADN extraído fue utilizado para amplificar una región de 526 pares de bases correspondiente al genotipo específico ST3 utilizando los cebadores ST3F (5'-TAGGATTTGGTGTTTGGAGA-3') y ST3R (5'-TTAGAGTGAAGGAGATGGAAG-3'). El protocolo de amplificación, en un volumen de 25 µL en total, incluyó un tampón de PCR 1X (Tris-HCL 10 mM, pH 8,8 y KCL 50 mM); MgCl<sub>2</sub> 1,5 mM; 2,5 U/µL de polimerasa Taq (Fermentas); 1,25 µM de cada uno de los dNTP (Fermentas), 0,5 µL de cada cebador y 5 µL de las muestras de ADN. Las reacciones de amplificación se realizaron utilizando un termociclador IVEMA T-18 bajo las siguientes condiciones: un ciclo de desnaturalización a 94 °C, 5 min; 40 ciclos a 57 °C, 30 s; extensión a 72 °C, 60 s; desnaturalización a 94 °C, 30 s y un ciclo adicional con un alargamiento de la cadena de 5 min a 72 °C (30). La electroforesis se realizó mediante la adición de 5 µL de los productos de PCR a un gel de agarosa al 1,5%, durante 30 min y a 80 mA con tinción con bromuro de etidio durante 15 min. Las bandas obtenidas se observaron mediante transiluminación ultravioleta (Maestro-Gen).



## Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron con el programa EpiInfo™ versión 7.2.3.1 (CDC, Atlanta). Para el análisis de las variables se aplicó el *test* de *Chi* cuadrado y el método binomial exacto. Se consideraron como estadísticamente significativos valores de  $p < 0,05$  y se calculó la *odds ratio* (OR) con un 95% de índice de confianza (IC95%) como medida de asociación o efecto.

## Resultados

Las características de la población estudiada y las prevalencias parciales de *Blastocystis* se observan en la Tabla I.

La prevalencia global de *Blastocystis* en la población estudiada fue de 31%, y fue mayor en pacientes sintomáticos (34,2%), en los menores de 10 años (34,9%) y en el sexo masculino (34%).

La presencia de síntomas se asoció significativamente con el hallazgo de *Blastocystis* ( $p < 0,002$ ; OR=2,72;

1,40 < OR < 5,38). No se hallaron asociaciones estadísticas entre *Blastocystis* y el grupo etario de menores de 10 años, ni con el sexo masculino. Tampoco con la disponibilidad de agua potable, de cloacas y el contacto con animales (Tabla I).

En 25 muestras con *Blastocystis* (17,5%) se halló pluri-parasitismo: *Giardia lamblia* (11/143), *Endolimax nana* (5/143), *Entamoeba coli* (2/143), *Enterobius vermicularis* (2/143), *Hymenolepis nana* (1/143), *Cryptosporidium* spp. (1/143), *Ascaris lumbricoides* (1/143), *Dientamoeba fragilis* (1/143), *E. vermicularis* y *D. fragilis* (1/143). La asociación más frecuente fue la de *Blastocystis* spp. con *G. lamblia*.

La prevalencia de *Blastocystis* obtenida por análisis microscópico directo de las muestras fecales fue mayor que la obtenida previa concentración por la técnica de Ritchie: 31% (143/461) para el directo y 17,1% (79/461) posconcentración. Las muestras que dieron positivas por Ritchie lo fueron también por examen directo.

En la Tabla I se muestra la frecuencia de enfermedades crónicas preexistentes informadas por los pacientes

Tabla I. Características de los pacientes que participaron del estudio (n=461), número de muestras positivas para *Blastocystis* (n=143) y prevalencias parciales.

Característica	Personas por grupo	%	<i>Blastocystis</i> (+)	Prevalencia (%)
<i>Edad</i> (años), media: 22,9				
0 - 10	229	49,7	80	34,9
>10	232	50,3	63	27,2
<i>Sexo</i>				
Femenino	264	57,3	76	28,8
Masculino	197	42,7	67	34
<i>Síntomas</i>				
Sí	380	82,4	130 <sup>a</sup>	34,2
No	81	17,6	13	16
<i>Agua potable</i>				
Sí	438	95	136	31,1
No	23	5	7	30,4
<i>Cloacas</i>				
Sí	354	76,8	106	29,9
No	107	23,2	37	34,6
<i>Contacto con animales</i>				
Sí	354	76,8	90	25,4
No	107	23,2	53	49,5
<i>Pedidos de laboratorio</i>				
Coproparasitológico	275	59,7	90	32,7
Coprocultivo	149	32,3	49	32,9
Sangre oculta	37	8	4	10,8
<i>Enfermedades preexistentes</i>				
Alergias	17	3,7	7	5,0
Diabetes	9	2,0	0	0
Enfermedad celíaca	8	1,7	6	4,2
Colon irritable	3	0,7	1	0,7
Leucemia	2	0,4	0	0
HIV	2	0,4	0	0
Sin enfermedades	420	91,1	129	90,2

<sup>a</sup>  $p < 0,002$ ; OR=2,72; 1,40 < OR < 5,38.

en las fichas epidemiológicas y la prevalencia de *Blastocystis* hallada.

En la Tabla II se muestran los porcentajes de los pacientes según los signos y síntomas y el diagnóstico de *Blastocystis*. Los síntomas gastrointestinales (SGI) fueron: diarrea, dolor abdominal, náuseas y/o vómitos, inapetencia y prurito anal. La mayoría de los pacientes con *Blastocystis* presentó diarrea y dolor abdominal. Sólo se encontró asociación estadística de *Blastocystis* con urticaria ( $p < 0,007$ ;  $OR = 4,08$ ;  $1,25 < OR < 14,06$ ).

Entre los 143 pacientes con *Blastocystis*, se demostró la presencia de ST3 en 85 muestras (62%). En la Figura 1 se observan las bandas mediante transiluminación ultravioleta. En la Figura 2 se muestra la cantidad de individuos sintomáticos y asintomáticos con *Blastocystis* spp. y *Blastocystis* ST3. No se halló asociación estadística entre *Blastocystis* ST3 y sintomatología.

La descripción de los *Blastocystis* spp. hallados en los análisis parasitológicos según morfotipos, tamaños y carga parasitaria se observa en la Tabla III.

En la Figura 3 se muestran las fotografías tomadas con un microscopio óptico de las formas de *Blastocystis* halladas en materia fecal: vacuolares, granulares y quísticas.

En algunas muestras se observaron formas atípicas (Fig.3.h), con inclusiones, donde los límites entre las formas vacuolares y granulares fueron difusos. En dos muestras se observaron formas aglutinadas (Fig.3.i)

Las formas más frecuentes fueron las vacuolares, seguidas por las granulares. La carga parasitaria fue escasa en la mayoría de las muestras (Tabla III). Los tamaños mínimos y máximos fueron: 3,3 a 21,3  $\mu\text{m}$  las vacuolares, 5,9 a 15,1  $\mu\text{m}$  las granulares y 3,5 a 8,1  $\mu\text{m}$  las quísticas; predominaron las formas pequeñas. En el 64,8% de las muestras, los *Blastocystis* fueron pequeños y escasos y la combinación más frecuente fue “vacuolares pequeñas y granulares”.

## Discusión y Conclusiones

La prevalencia de *Blastocystis* hallada en el presente estudio está dentro de los valores estimados por otros autores para la Argentina (13) (14) y demostró ser significativamente mayor en pacientes sintomáticos que en portadores asintomáticos. Dentro de los pacientes sintomáticos no se encontraron asociaciones estadísti-

Tabla II. Relación entre signos/síntomas y la presencia de *Blastocystis* en pacientes sintomáticos (n=380)

Signos y/o síntomas	n	%	Blastocystis				p
			Positivo	%	Negativo	%	
SGI	336	88,4	111	33	225	66	0,18
Urticaria	15	4	10	66,7	5	33,3	0,007 <sup>a</sup>
Otros	29	7,6	9	31	20	69	0,71

SGI: signos y/o síntomas gastrointestinales. Otros: bajo peso, fiebre y anemia. <sup>a</sup>  $OR = 4,08$ ;  $1,25 < OR < 14,06$ .

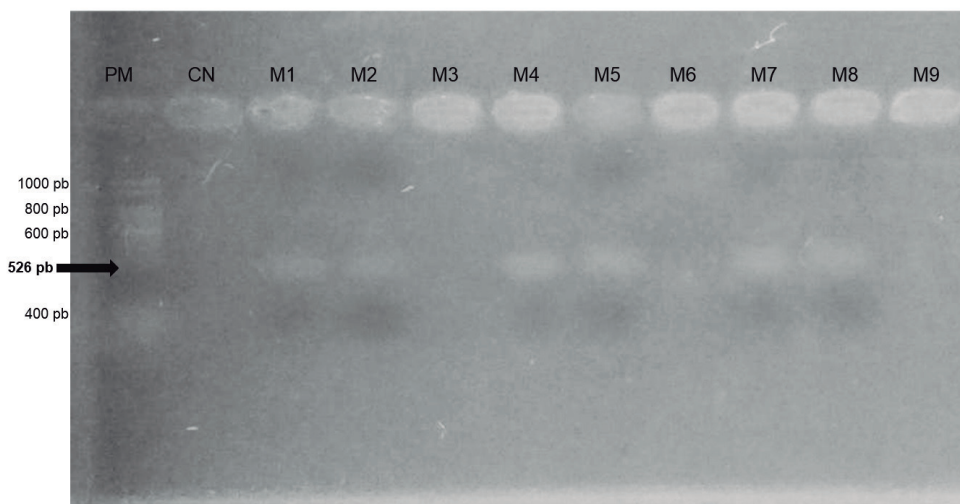


Figura 1. Genotipificación de *Blastocystis* aislados. PM: Marcador de peso molecular; CN control negativo; M1, M2, M4, M5, M7 y M8: muestras positivas para *Blastocystis* ST3. M3, M6 y M9 son muestras donde no se detectó la presencia de *Blastocystis* ST3.

Tabla III. Descripción de *Blastocystis* spp. en la población estudiada según: morfología, tamaño y carga parasitaria.

Aspecto observado	n	N° de muestras	%
<b>Morfología</b>	143		
Vacuolares		119	83,2
Granulares		4	2,8
Quistes		0	0
Vacuolares y granulares		13	9,1
Vacuolares y quistes		5	3,5
Vacuolares, granulares y quistes		2	1,4
<b>Tamaño de las formas</b>	143		
Pequeñas (<10 µm)		102	71,3
Grandes (≥10 µm)		41	28,7
<b>Carga parasitaria (por campo de 40X)</b>	90 <sup>a</sup>		
Escasa (<1)		59	65,6
Regular (1 a 4)		11	12,2
Abundante (≥5)		20	22,2

<sup>a</sup> El recuento de *Blastocystis* se realizó en las muestras seriadas de materia fecal (n=90).

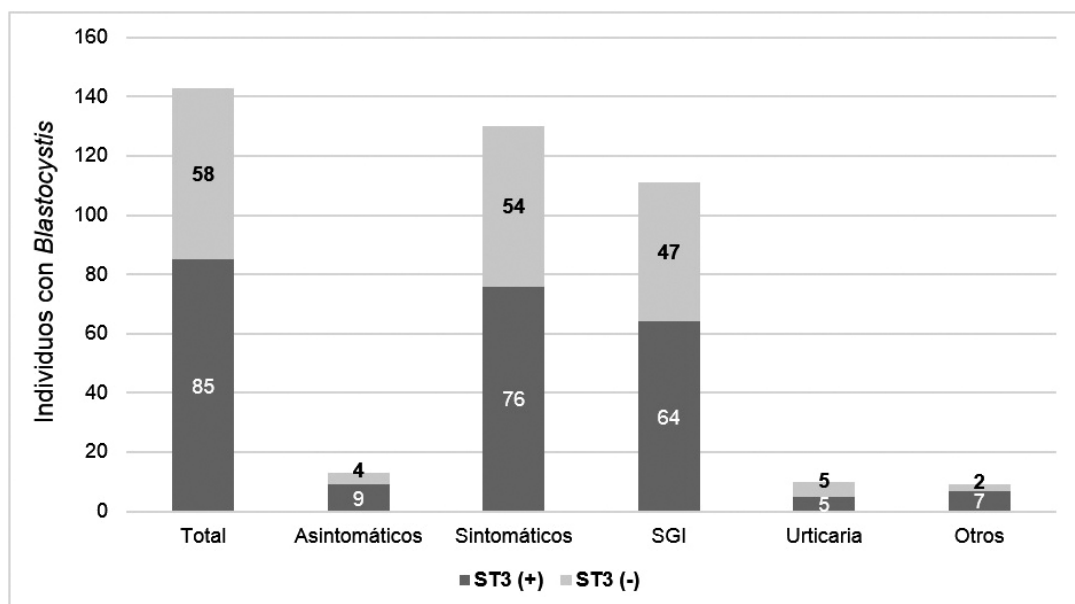


Figura 2. Distribución de *Blastocystis* ST3 en la población total y en pacientes asintomáticos y sintomáticos. SGI: signos y/o síntomas gastrointestinales. Otros: bajo peso, fiebre y anemia.

cas significativas entre *Blastocystis* y SGI. Se ha especulado que *Blastocystis* podría comportarse como *Giardia lamblia* que puede ser hallada en pacientes sin síntomas o como *E. histolytica/dispar* cuya colonización en general es asintomática (31). Se debe tener en cuenta que se informa como *E. histolytica/dispar* cuando el análisis depende solamente de la microscopía y no es posible distinguir entre *E. histolytica*, considerada patógena y *E. dispar* que se comporta como comensal.

Con respecto a los otros signos y síntomas que presentaron los pacientes, sólo se halló asociación estadís-

tica entre *Blastocystis* y urticaria. La asociación con urticaria de etiología desconocida se ha discutido en varios estudios (13) (21) (22) y habría cierta evidencia de que la forma ameboide y los ST2, ST3 y ST4 estarían asociados con la urticaria crónica (19). En este trabajo, el 66,7% de los pacientes con urticaria presentó *Blastocystis* y de ellos, en el 50% se identificó el ST3. No se hallaron formas ameboides por análisis coproparasitológico, pero estas formas han sido aisladas principalmente por cultivos de muestras fecales de pacientes sintomáticos (32). Por otra parte, el rol patogénico de ese morfoti-

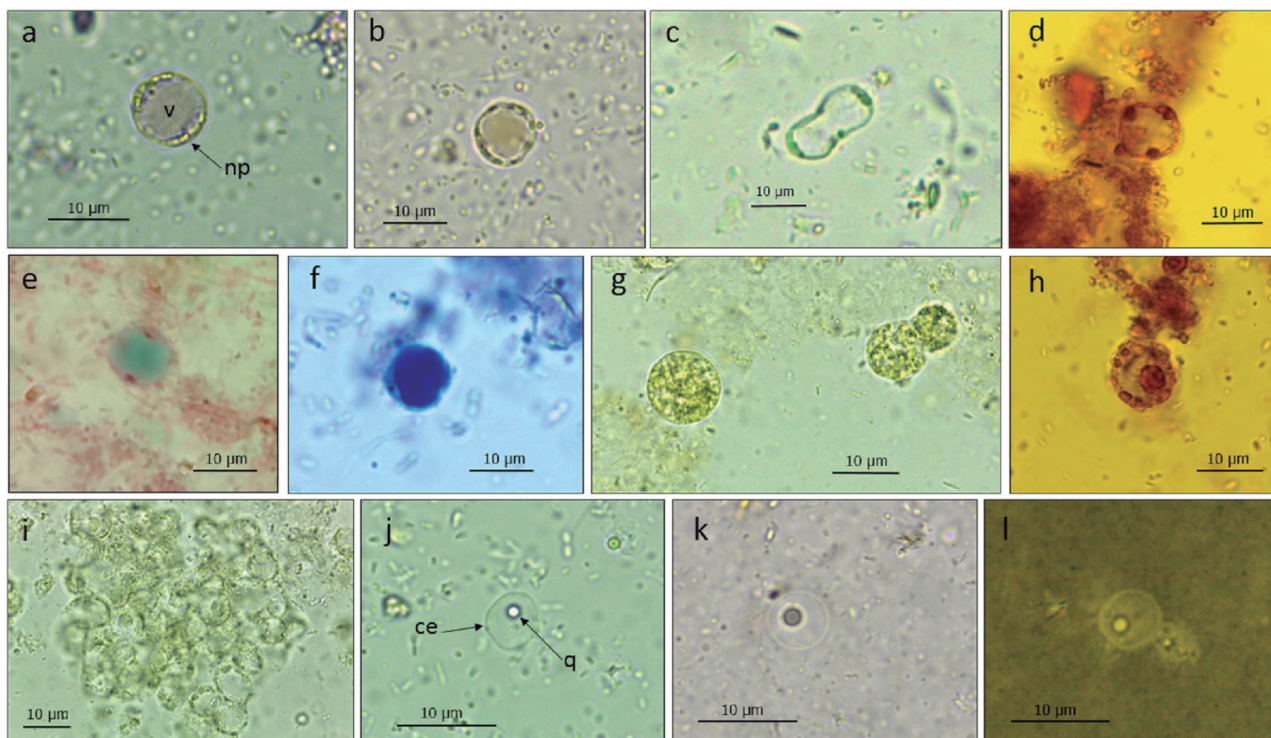


Figura 3. Fotografías tomadas con un microscopio óptico de los diferentes morfotipos observados en la materia fecal. Formas vacuolares: a, b, c (en división), d (Lugol), e (Tricrómica) y f (Azul de metileno); granular: g; atípica: h; aglutinadas: i y formas quísticas: j, k, l (Tinta china).

np: núcleos periféricos; v: vacuola; ce: cubierta externa; q: cuerpo del quiste refringente.

po en los distintos ST se está cuestionando después de comprobar que las formas ameboides en ST1 son mayoritariamente no viables (5). No se hallaron asociaciones significativas entre *Blastocystis* y la edad de los pacientes; sin embargo, los niños menores de 10 años fueron el grupo etario con mayor frecuencia de *Blastocystis* y con mayor frecuencia de sintomatología. Según varios estudios los niños, al igual que los ancianos, serían más susceptibles a la infección por *Blastocystis* (11) (20).

La prevalencia de *Blastocystis* en la población asintomática fue de 16%, un valor menor que en pacientes sintomáticos que lleva a pensar en su participación en el estado de salud y en el proceso salud-enfermedad. El reconocimiento de que la prevalencia de *Blastocystis* en personas sanas es alta y que puede colonizar el colon humano durante años (33), ha determinado un cambio de paradigma en la investigación de este parásito. Varios eucariotas intestinales son comensales o beneficiosos (34) y *Blastocystis* podría asociarse así con sus hospedadores. Algunos parásitos intestinales luminales comunes, CLIPP, por sus siglas en inglés (*common luminal intestinal parasitic protists*), se hallan con más frecuencia en individuos sin síntomas que en sintomáticos y esto ha llevado a especular que algunos, entre ellos *Blastocystis*, podrían ser protectores de enfermedad (35). La colonización por *Blastocystis* podría estar asociada con

una microbiota intestinal saludable, en lugar de relacionarse con la disbiosis intestinal que se observa en enfermedades inflamatorias metabólicas o infecciosas del tracto gastrointestinal (24). En ese rol *Blastocystis* se comportaría como un miembro común de la microbiota intestinal humana sana y ayudaría a mantener la capa de moco intestinal, aliviando los síntomas de la colitis y mejorando la salud intestinal (34) (36).

Si bien el número de individuos con enfermedad celíaca en la población estudiada fue bajo, se destaca la alta prevalencia de *Blastocystis* hallada en estos pacientes. Se sabe que en la celiaquía aumenta la susceptibilidad a las infecciones por bacterias, virus y parásitos (37). Según Jiménez *et al.* (38) en pacientes celíacos con bajo peso y atrofia de las vellosidades, *Blastocystis* se comportaría como un patógeno oportunista.

En el estado actual del conocimiento, se ha sugerido denominar a *Blastocystis* como simbiote (34) en lugar de parásito ya que el término «simbiote» abarca a los organismos asociados al hospedador en todas las relaciones posibles, beneficiosas, perjudiciales o neutrales; tres tipos de asociaciones que parecen ser posibles con *Blastocystis*.

En los análisis coproparasitológicos se hallaron formas vacuolares, granulares y quísticas, pero no se observaron las otras formas descritas en la literatura. En



dos pacientes con sintomatología gastrointestinal se hallaron formas agrupadas o aglutinadas cuya disposición podría asociarse a la capacidad de formar una monocapa en la mucosa intestinal. En correspondencia con otras publicaciones (26) (27) la forma vacuolar fue la más frecuente, seguida de la granular. Se ha estimado que el diámetro de las formas vacuolares de *Blastocystis* oscila entre 2 y 200  $\mu\text{m}$  (26). En el presente trabajo se observó el predominio de formas pequeñas, con diámetros menores de 10  $\mu\text{m}$  y 21,3  $\mu\text{m}$  como máximo. Otros estudios también describieron el predominio de formas pequeñas. MacPherson *et al.* (39) analizaron 3200 formas de *Blastocystis* en muestras fecales e indicaron que más del 90% de los parásitos observados eran esféricos y medían entre 5 y 15  $\mu\text{m}$ .

Las formas quísticas se determinaron en muestras que ya eran positivas por presencia de formas vacuolares y/o granulares. En varias muestras se observaron formas similares a quistes, pero su morfología no fue determinante. Se concluyó que el tamaño pequeño del quiste y su semejanza con otras estructuras que aparecen en la materia fecal dificultan la realización del diagnóstico de certeza de *Blastocystis*, si es la única forma presente. Esta complicación fue particularmente notable en las muestras fecales con levaduras.

En las muestras analizadas, *Blastocystis* fue muy pleomórfico, incluso dentro de la misma forma. Entre la forma vacuolar típica y la granular se hallaron formas intermedias y con límites difusos. Se ha publicado que las formas granulares pueden provenir de formas vacuolares cuya transformación estaría inducida por las condiciones medioambientales o por fijación de artefactos presentes en la muestra (27) y que las formas no viables eran más granulosas (5). De esta manera las condiciones de conservación o la demora en la observación de la muestra podría afectar la relación entre estas formas.

Como ha sido documentado en otros trabajos (40) (41), en esta investigación la microscopía directa mostró mayor sensibilidad que el método de concentración de Ritchie. Se especula que el parásito podría deformarse en el proceso de centrifugación y quedar en la capa de residuos que se descarta cuando se aplica este método o que la fragilidad de las formas tróficas del parásito determine su destrucción durante la ejecución de la técnica. Sin embargo, en otros trabajos el método de Ritchie fue más sensible que la microscopía directa (42). Frente a esta discrepancia se sugiere el uso de ambos métodos para obtener los mejores resultados (41), tal como se ha procedido en el presente estudio.

Teniendo en cuenta la alta prevalencia de *Blastocystis* hallada, la baja carga parasitaria observada en la mayoría de las muestras seriadas y que en la actualidad no es posible distinguir entre colonización e infección (3) (11), se enfatiza el criterio de informarlos, independientemente de la carga parasitaria y que el médico analice su posible participación en el proceso salud-

enfermedad para cada paciente en particular. En el diagnóstico de *Blastocystis* varios estudios recomiendan sobrepasar un número umbral de parásitos detectados con el microscopio óptico por campo visual, antes de informar la muestra como positiva; por lo general, se ha establecido en cinco *Blastocystis* por campo de 40X (26). Este criterio no parece estar fundamentado ya que se sabe que la eliminación parasitaria en materia fecal es irregular (43). Además, el estado de conservación de la muestra puede influir en el número de *Blastocystis* vistos por campo microscópico (1); por lo tanto, considerar la carga parasitaria como un criterio de patogenicidad debería desestimarse. En relación con esto, la mayoría de los médicos no le atribuyen importancia clínica y suelen considerarlo irrelevante cuando se observan menos de cinco formas parasitarias por campo microscópico.

La mayoría de las muestras presentaron formas vacuolares pequeñas y *Blastocystis* escasos, por lo tanto, para no informar falsos negativos, se recomienda realizar un análisis microscópico exhaustivo. Los valores de prevalencia publicados por los distintos autores son altos, pero se especula que podrían ser mayores. Si se considera que aparece de diferentes formas, que pueden ser muy escasas, que la forma quística es apenas reconocible y que los parásitos pueden deteriorarse por condiciones medioambientales (27), *Blastocystis* podría estar subdiagnosticado en el análisis coproparasitológico. Si bien se ha demostrado que la PCR es más sensible que la microscopía (44), en la mayoría de los países en desarrollo dicha técnica no se puede aplicar en la práctica asistencial (28); por lo tanto, la detección de *Blastocystis* en el laboratorio se basa fundamentalmente en el examen directo o previo enriquecimiento de materia fecal utilizando el microscopio óptico.

La determinación molecular de las muestras positivas arrojó una prevalencia de *Blastocystis* ST3 del 62%. Este resultado coincide con otros estudios realizados en diferentes países del mundo (23) y en particular en América (45), que indican que ST3 es muy prevalente en muestras de materia fecal humana. El ST3 está considerado como el más antroponótico pero también ha sido hallado en animales (1). Existe información que sugiere que la mayoría de las infecciones por ST3 en el hombre resultarían de la transmisión de humano a humano (46). No se halló asociación estadística entre la tenencia de mascotas y la presencia de *Blastocystis*. En todos los casos los pacientes informaron tener perros y/o gatos. Estos resultados podrían relacionarse con que los pacientes presentaron alta frecuencia de *Blastocystis* ST3, que no está considerado como especialmente zoonótico. La posibilidad de transmisión zoonótica de *Blastocystis* se apoya en la mayor prevalencia de la parasitosis en personas que viven en zonas rurales y en contacto con animales (4) y en el hecho de que la transmisión entre animales y el hombre se ha confirmado en forma experimental (47). En la actualidad se desconoce la participación de

cada tipo de animal en la transmisión de *Blastocystis* (2). En este trabajo se ha investigado sólo la prevalencia de ST3 y es sabido que, aunque los pacientes en su mayoría presentarían un solo ST de *Blastocystis*, pueden albergar más de uno y presentar infecciones mixtas (3). No se encontró asociación estadística entre los pacientes sintomáticos y asintomáticos y la infección por ST3. Algunos estudios no han presentado diferencias claras en los ST entre los aislados de los pacientes asintomáticos y sintomáticos con síntomas gastrointestinales (48) y otros no han podido demostrar asociación estadística entre los ST de *Blastocystis* y síntomas gastrointestinales (49) (50). En estos trabajos identificaron ST3 como el subtipo más frecuente en ambos grupos (sintomático y asintomático), pero no observaron una relación significativa entre este subtipo y los síntomas gastrointestinales. Se ha demostrado que los pacientes asintomáticos pueden albergar cualquier ST de *Blastocystis*, lo que sugiere que no habría una asociación estricta entre el ST y los síntomas (44). Por otra parte, aunque ST3 es el subtipo más comúnmente encontrado en la mayoría de los estudios epidemiológicos en seres humanos, se ha informado una menor asociación de ST3 con síntomas en comparación con otros ST, por ejemplo, con ST1 (50).

No se detectaron diferencias morfológicas entre los *Blastocystis* de los pacientes con ST3 y en aquellos donde no se ha demostrado su presencia. Existen diferencias biológicas y moleculares entre los ST, pero no son distinguibles con el microscopio óptico. Yason *et al.* (5) demostraron que ST1, ST4 y ST7 evidenciaron diferencias de formas, tamaños y de contenido granular, pero hallaron estas características morfológicas disímiles utilizando citometría de flujo de imágenes y fluorescencia.

Los resultados de este trabajo resaltan la alta prevalencia *Blastocystis* y de *Blastocystis* ST3 en la población estudiada, la necesidad de hacer un diagnóstico coproparasitológico minucioso, la importancia de informarlo y de considerarlo como posible agente de enfermedad, independientemente de la carga parasitaria, ya que no es indicadora de importancia clínica, y su significación estadística con urticaria. El comportamiento polifacético de *Blastocystis* robustece la importancia de no ignorarlo en el diagnóstico parasitológico humano. Aún es necesario explorar la distribución de *Blastocystis* en el medio ambiente, conocer por qué en algunos pacientes se asocia a procesos mórbidos y en otros no, cómo se relaciona con la microbiota intestinal, cuál es su importancia zoonótica y cuáles son las diferencias inter e intrasubtipos.

### Fuentes de financiación

El presente trabajo ha sido financiado con los fondos recibidos para el Proyecto de Grupo de Investigación (PGI) "Especies *Blastocystis*: validación de pruebas diagnósticas y asociación con el estado salud-enfermedad". Código 24/B239. Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia. Secretaría de Ciencia y Tecnología.

Universidad Nacional del Sur. El proyecto fue dirigido por la Dra. Elena Concepción Visciarelli y codirigido por el Dr. Marcelo Occhionero.

### Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses respecto del presente trabajo.

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Comité de Docencia e Investigación del Hospital Municipal de Agudos Dr. Leónidas Lucero y a Laboratorios de Análisis Clínicos Integrados (L.A.C.I.), de Bahía Blanca, Argentina, por autorizar la derivación de las muestras para realizar el presente trabajo.

### Correspondencia

Bioq. ELENA CONCEPCIÓN VISCIARELLI  
Domicilio laboral: Cátedra de Parasitología Clínica.  
Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia  
Universidad Nacional del Sur, San Juan 670  
(8000) BAHÍA BLANCA, Argentina.  
Domicilio particular: Agustín Álvarez 1927  
(8000) BAHÍA BLANCA, Argentina.  
Correo electrónico: [evisciar@criba.edu.ar](mailto:evisciar@criba.edu.ar)  
[dra.elenavisciarelli@gmail.com](mailto:dra.elenavisciarelli@gmail.com)

### Referencias bibliográficas

1. Stensvold CR, Clark CG. Current status of *Blastocystis*: a personal view. *Parasitol Int* 2016; 65 (6): 763-71.
2. Cian A, El Safadi D, Osman M, Moriniere R, Gantois N, Benamrouz-Vanneste S, *et al.* Molecular epidemiology of *Blastocystis* sp. in various animal groups from two French zoos and evaluation of potential zoonotic risk. *PLoS One* 2017; 12 (1): e0169659.
3. Scanlan P, Stensvold CR, Cotter PD. Development and application of a *Blastocystis* subtype-specific PCR assay reveals that mixed-subtype infections are common in a healthy human population. *Appl Environ Microbiol* 2015; 81 (12): 4071-6.
4. Li J, Karim MR, Li D, Rahaman Sumon SMM, Siddiki SHMF, Rume FI, *et al.* Molecular characterization of *Blastocystis* sp. in captive wildlife in Bangladesh National Zoo: non-human primates with high prevalence and zoonotic significance. *Int J Parasitol Parasite Wildl* 2019; 10: 314-20.
5. Yason JA, Tan KS. Seeing the whole elephant: imaging flow cytometry reveals extensive morphological diversity within *Blastocystis* isolates. *PLoS One* 2015; 10 (11): e0143974.
6. Fathy FM. A study on *Blastocystis hominis* in food-handlers: diagnosis and potential pathogenicity. *J Egypt Soc Parasitol* 2011; 41 (2): 433-53.

7. Zaki M, Zaman V, Sheikh NA. Resistance of *Blastocystis hominis* cysts to chlorine. J Pak Med Assoc 1996; 46 (8): 178-9.
8. Stensvold CR, Lebbad M, Hansen A, Beser J, Bekkessa S, O'Brien Andersen L, et al. Differentiation of *Blastocystis* and parasitic archamoebids encountered in untreated wastewater samples by amplicon-based next-generation sequencing. Parasite Epidemiol Control 2019; 9: e00131.
9. Wawrzyniak I, Poirier P, Viscogliosi E, Dionigia M, Texier C, Delbac F, et al. *Blastocystis*, an unrecognized parasite: an overview of pathogenesis and diagnosis. Ther Adv Infect Dis 2013; 1 (5): 167-78.
10. Alfellani MA, Stensvold CR, Vidal-Lapiedra A, Onuoha ES, Fagbenro-Beyioku AF, Clark CG. Variable geographic distribution of *Blastocystis* subtypes and its potential implications. Acta Trop 2013; 16: 11-8.
11. El Safadi D, Gaayeb L, Meloni D, Cian A, Poirier P, Wawrzyniak I, et al. Children of Senegal River Basin show the highest prevalence of *Blastocystis* sp. ever observed worldwide. BMC Infect Dis 2014; 14: 164.
12. Deng L, Chai Y, Zhou Z, Liu H, Zhong Z, Hu Y, et al. Epidemiology of *Blastocystis* sp. infection in China: a systematic review. Parasite 2019; 26: 41.
13. Casero R, Mongi F, Sánchez A, Ramírez JD. *Blastocystis* and urticaria: examination of subtypes and morphotypes in an unusual clinical manifestation. Acta Trop 2015; 126: 12-6.
14. Molina N, Grenóvero S, Bertucci E, Basualdo J. *Blastocystis* sp. una infección emergente en Argentina: revisión de la literatura científica de los últimos 25 años. Conferencia: III Congreso Panamericano de Zoonosis. 2014, Volumen 1. La Plata, Argentina.
15. Irikov OA, Antokhin AI, Romanov YA. Study of the dynamics of *Blastocystis hominis* reproduction *in vitro*. Bull Exp Biol Med 2009; 148 (1): 99-102.
16. Maloney JG, Lombard JE, Urie NJ, Shivley CB, Santin M. Zoonotic and genetically diverse subtypes of *Blastocystis* in US pre-weaned dairy heifer calves. Parasitol Res 2019; 118 (2): 575-82.
17. Stensvold CR, Suresh GK, Tan KS, Thompson RC, Traub RJ, Viscogliosi E, et al. Terminology for *Blastocystis* subtypes - a consensus. Trends Parasitol 2007; 23 (3): 93-6.
18. Poirier P, Wawrzyniak I, Vivares CP, Delbac F, El Alaoui H. New insights into *Blastocystis* spp.: a potential link with irritable bowel syndrome. PLoS Pathog 2012; 8 (3): e1002545.
19. Lepczyńska M, Chen WC, Dzika E. Mysterious chronic urticaria caused by *Blastocystis* spp.? Int J Dermatol 2016; 55 (3): 259-66; quiz 263-4, 266.
20. Tan KS, Mirza H, Teo JD, Wu B, Macary PA. Current views on the clinical relevance of *Blastocystis* spp. Curr Infect Dis Rep 2010; 12 (1): 28-35.
21. Verma R, Delfanian K. *Blastocystis hominis* associated acute urticaria. Am J Med Sci 2013; 346 (1): 80-1.
22. Vogelberg C, Stensvold CR, Monecke S, Ditzgen A, Stoppsack K, Heinrich-Gräfe U, et al. *Blastocystis* sp. subtype 2 detection during recurrence of gastrointestinal and urticarial symptoms. Parasitol Int 2010; 59 (3): 469-71.
23. Skotarczak B. Genetic diversity and pathogenicity of *Blastocystis*. Ann Agric Environ Med 2018; 25 (3): 411-6.
24. Audebert C, Even G, Cian A, *Blastocystis* Investigation Group, Loywick A, Merlin S, et al. Colonization with the enteric protozoa *Blastocystis* is associated with increased diversity of human gut bacterial microbiota. Sci Rep 2016; 6: 25255.
25. Lepczyńska M, Białkowska J, Dzika E, Piskorz-Ogórek K, Korycińska J. *Blastocystis*: how do specific diets and human gut microbiota affect its development and pathogenicity? Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2017; 36 (9): 1531-40.
26. Tan KS. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. Clin Microbiol Rev 2008; 21(4): 639-65.
27. Zhang X, Zhang S, Qiao J, Wu X, Zhao L, Liu Y, et al. Ultrastructural insights into morphology and reproductive mode of *Blastocystis hominis*. Parasitol Res 2012; 110 (3): 1165-72.
28. Mohammad NA, Mastuki MF, Al-Mekhlafi HM, Moktar N, Anuar TS. Comparative study of Wheatley's trichrome stain and *in-vitro* culture against PCR assay for the diagnosis of *Blastocystis* sp. in stool samples. Iran J Parasitol 2018; 13 (1): 127-36.
29. Pérez-Cordón G, Rosales-Lombardo MJ, Sánchez-Moreno M. Procesamiento de muestras fecales en el estudio de *Cryptosporidium* sp. mediante PCR. Rev Peru Biol 2005; 12 (1): 158-60.
30. Khademvatan S, Masjedizadeh R, Yousefi-Razin E, Mahbodfar H, Rahim F, Yousefi E, et al. PCR-based molecular characterization of *Blastocystis hominis* subtypes in southwest of Iran. J Infect Public Health 2018; 11 (1): 43-7.
31. Tellevik MG, Moyo SJ, Blomberg B, Hjøllø T, Maselle SY, Langeland N, et al. Prevalence of *Cryptosporidium parvum/hominis*, *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* among young children with and without diarrhea in Dar es Salaam, Tanzania. PLoS Negl Trop Dis 2015; 9 (10): e0004125.
32. Rajamanikam A, Govind SK. Amoebic forms of *Blastocystis* spp. - evidence for a pathogenic role. Parasit Vectors 2013; 6 (1): 295.
33. Scanlan P, Stensvold CR, Rajilić-Stojanović M, Heilig H, De Vos W, O'Toole P, et al. The microbial eukaryote *Blastocystis* is a prevalent and diverse member of the healthy human gut microbiota. FEMS Microbiol Ecol 2014; 90 (1): 326-30.
34. Lukeš J, Stensvold CR, Jirků-Pomajbíková K, Wegener Parfrey L. Are human intestinal eukaryotes beneficial or commensals? PLoS Pathog 2015; 11 (8): e1005039.
35. Stensvold CR. Pinning down the role of common luminal intestinal parasitic protists in human health and disease - status and challenges. Parasitology 2019; 146 (6): 695-701.
36. Leung JM, Davenport M, Wolff MJ, Wiens KE, Abidi WM, Poles MA, et al. II-22-producing cd4+ cells are

- depleted in actively inflamed colitis tissue. *Mucosal Immunol* 2014; 7: 124-33.
37. Rostami Nejad M, Ishaq S, Al Dulaimi D, Zali MR, Rostami K. The role of infectious mediators and gut microbiome in the pathogenesis of celiac disease. *Arch Iran Med* 2015; 18 (4): 244-9.
  38. Jiménez OM, Carbonell AE, García O, Rodríguez LW, Triana FP, Fabián LG. *Blastocystis hominis* en pacientes celíacos sintomáticos [*Blastocystis hominis* in symptomatic celiac patients]. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2012; 42 (3): 175-81.
  39. MacPherson DW, MacQueen WM. Morphological diversity of *Blastocystis hominis* in sodium acetate-acetic acid-formalin-preserved stool samples stained with iron hematoxylin. *J Clin Microbiol* 1994; 32 (1): 267-8.
  40. Devera R, Blanco Y, Requena I, Velásquez V. Diagnóstico de *Blastocystis hominis*: bajo rendimiento de los métodos de concentración de formol-éter y sedimentación espontánea. *Rev Biomed* 2006; 17: 231-3.
  41. Moura RGF, Oliveira-Silva MB, Pedrosa AL, Nascentes GAN, Cabrine-Santos M. Occurrence of *Blastocystis* spp. in domestic animals in Triângulo Mineiro area of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2018; 51 (2): 240-3.
  42. Cabrine-Santos M, Cintra E, do Carmo RA, Nascentes GA, Pedrosa AL, Correia D, *et al.* Occurrence of *Blastocystis* spp. in Uberaba, Minas Gerais, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2015; 57 (3): 211-4.
  43. Vennila GD, Suresh Kumar G, Khairul Anuar A, Rajah S, Saminathan R, Sivanandan S, *et al.* Irregular shedding of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res* 1999; 85 (2): 162-4.
  44. Ramírez JD, Flórez C, Olivera M, Bernal MC, Giraldo JC. *Blastocystis* subtyping and its association with intestinal parasites in children from different geographical regions of Colombia. *PLoS One* 2017; 12 (2): e0172586.
  45. Ramírez JD, Sánchez A, Hernández C, Flórez C, Bernal MC, Giraldo JC, *et al.* Geographic distribution of human *Blastocystis* subtypes in South America. *Infect Genet Evol* 2016; 41: 32-5.
  46. Stensvold CR, Alfellani M, Clark CG. Levels of genetic diversity vary dramatically between *Blastocystis* subtypes. *Infect Genet Evol* 2012; 12 (2): 263-73.
  47. Ajjampur SSR, Png CW, Chia WN, Zhang Y, Tan KSW. Ex vivo and in vivo mice models to study *Blastocystis* spp. adhesion, colonization and pathology: closer to proving Koch's postulates. *PLoS One* 2016; 11(8): e0160458.
  48. Yoshikawa H, Wu Z, Kimata I, Iseki M, Ali IK, Hossain MB, *et al.* Polymerase chain reaction-based genotype classification among human *Blastocystis hominis* populations isolated from different countries. *Parasitol Res* 2004; 92: 22-9.
  49. Jantermtor S, Pinlaor P, Sawadpanich K, Pinlaor S, Sangka A, Wilailuckana C, *et al.* Subtype identification of *Blastocystis* spp. isolated from patients in a major hospital in northeastern Thailand. *Parasitol Res* 2013; 112 (4): 1781-6.
  50. Ozyurt M, Kurt O, Mølbak K, Nielsen HV, Haznedaroglu T, Stensvold CR. Molecular epidemiology of *Blastocystis* infections in Turkey. *Parasitol Int* 2008; 57 (3): 300-6.

**Recibido: 7 de septiembre de 2020**

**Aceptado: 16 de octubre de 2020**