

Algunas consideraciones acerca de *Blastocystis* sp., un parásito controversial*

Some considerations about Blastocystis sp, a controversial parasite

► Leonora Eugenia Kozubsky¹, Susana Archelli²

-
1. Licenciada en Ciencias Bioquímicas.
 2. Bacteriólogo Clínico e Industrial.

* PEEC Parasitología. Fundación Bioquímica Argentina.

Resumen

Blastocystis es un organismo unicelular, anaerobio y uno de los parásitos intestinales de mayor prevalencia a nivel mundial. Durante mucho tiempo su ubicación taxonómica fue difícil de definir. Actualmente es considerado el único parásito humano del Reino Chromista. Se le reconocen numerosas formas evolutivas (vacuolares, granulares, ameboidales, avacuolares, multi-vacuolares y quísticas) que conforman un ciclo vital aún en estudio. Los quistes son las formas de resistencia y transmisión. Se lo considera un parásito zoonótico con 9 subtipos que pueden tener diferentes especificidades entre hospedadores humanos y animales. Su carácter patógeno ha sido motivo también de controversia dado que puede presentar infecciones asintomáticas o sintomáticas con manifestaciones digestivas, y dérmicas, entre otras. El diagnóstico de laboratorio puede ser microscópico o mediante cultivos, serología y técnicas moleculares.

Palabras clave: *Blastocystis* sp. * blastocistosis * parásito

Summary

Blastocystis is an anaerobic, unicellular organism and it is one of the most prevalent among intestinal parasites. It has a worldwide distribution. Nowadays, it is considered the only human parasite that belongs to the kingdom Chromista. Many morphological forms of the parasite are known: vacuolar, granular, amoeboid, avacuolar, multivacuolar and cyst. Its life cycle is not completely understood. Cysts are the forms of resistance and transmission. It is considered a zoonotic parasite with 9 sub-types, with different specificities for human and animal hosts. Its pathogenesis is controversial because it can cause asymptomatic and symptomatic infections, with gastrointestinal and cutaneous manifestations. Laboratory diagnosis may be performed by microscopic, cultural, serological and molecular techniques.

Key words: *Blastocystis* sp. * blastocystosis * parasite

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

Introducción

Blastocystis es uno de los parásitos intestinales zoonóticos de mayor prevalencia y de distribución mundial. Es un organismo unicelular, anaerobio, cuya taxonomía ha sido motivo de estudios, controversias y revisiones. Se caracteriza por una gran variabilidad genética, con la existencia de varios genotipos, lo que hace dificultoso su estudio y que ha llevado también a controversias en cuanto a características morfológicas, ciclo vital y su rol como patógeno tanto en animales como en humanos.

Taxonomía

Blastocystis fue considerado una levadura, un protozoo cercano a los flagelados y luego a las amebas, pero según investigaciones basadas en el estudio filogenético del *ssrARN* (subunidad pequeña del *rARN*), actualmente se lo ubica dentro del Reino Chromista, Subreino Chromobiota; Infrarreino Stramenopiles; Subphylum Opalinata; Clase Blastocystea y Género *Blastocystis* (1). Es el único parásito humano perteneciente a este reino, al que también pertenecen las algas marrones y las diatomeas.

Utilizando diferentes técnicas moleculares como PCR-RFLP, PCR seguido de secuenciación y PCR con *primers* subtipo específicos, se ha comprobado una extensa variabilidad genética tanto en aislados provenientes de animales como de humanos (2).

Se considera que existen 9 subtipos y se ha propuesto la eliminación de la nomenclatura *Blastocystis hominis* y reemplazarla por la de *Blastocystis* sp. seguida de la indicación del subtipo de 1 a 9 en los aislamientos de aves y/o mamíferos según un consenso de 2007(3). Ha sido propuesta una distribución tentativa de los subtipos según el hospedador. El subtipo 1 se asocia a varios mamíferos y aves, el subtipo 2 está asociado a primates y cerdos, el subtipo 3 es el genotipo más frecuentemente hallado en humanos, el subtipo 4 se asocia a roedores, el subtipo 5 está relacionado con el ganado vacuno y con cerdos, los subtipos 6 y 7 son frecuentemente aislados de aves; por último, los subtipos 8 y 9 están estrechamente vinculados con los subtipos 4 y 6, respectivamente. En algunas publicaciones se menciona la posible existencia de un subtipo 10 aislado en primates (4-11). Esto demuestra la baja especificidad entre parásito y hospedador, lo que hace poco adecuada la vieja denominación "*B. hominis*". Estudios recientes apuntarían a la probable existencia de diferentes especies de este género, pasando el subtipo 3 a ser realmente *B. hominis* (2).

Epidemiología

Blastocystis sp. se halla distribuido mundialmente, y epidemias atribuidas al mismo fueron informadas desde

los inicios del siglo XX. La infección probablemente no esté relacionada al sexo, pero puede estar influenciada por la edad de los pacientes, su estado inmune y factores relacionados a higiene y saneamiento. Son necesarios mayores estudios utilizando análisis genéticos para determinar las características epidemiológicas de los subtipos de *Blastocystis* en diferentes poblaciones humanas (12) (13).

En general, en los países en desarrollo existe una mayor prevalencia del parásito que en los países desarrollados, relacionando esto con la falta de higiene, la exposición a los animales y el consumo de alimentos o agua contaminados. En países como Japón suele ser baja (0,5 a 1%) (14) al igual que en Singapur (3,3%) y EE.UU. (3%). Es alta en las naciones en desarrollo como Brasil (40,9%), Cuba (38,5%), Egipto (33,3%), Indonesia (60%), (12) (13) y Filipinas 40,7% (15). La prevalencia varía ampliamente de país a país y dentro de las diversas comunidades de cada uno. Estas variaciones en el mismo país podrían reflejar diferencias reales entre las comunidades, sobre todo si se utilizaron las mismas técnicas de identificación. Las variaciones también podrían deberse a diferentes enfoques diagnósticos y a la dificultad de identificar al parásito en etapas distintas de la forma vacuolar. En un estudio prospectivo en escolares de Venezuela se observó una prevalencia del 16,8%. La diarrea fue la manifestación clínica más frecuente (16).

En estudios realizados en una población adulta de manipuladores de alimentos en el mismo país, el 36,14% de las muestras fecales analizadas estaban parasitadas y de éstas, el 25,78% presentaban *Blastocystis* (17). En otro estudio prospectivo en manipuladores de alimentos en Arabia Saudita, sobre 17.073 individuos, el 8,50% resultó positivo para este parásito (18).

En otro estudio efectuado en diez centros geriátricos de Taiwán, la prevalencia de blastocistosis fue más alta entre los profesionales extranjeros (12,2%), y nacionales (4,6%) seguidos de los residentes (2,7%) (19).

En una población indígena del Mato Grosso (Brasil) el 73,5% estaban infectados con al menos un parásito intestinal, donde *Blastocystis* era predominante con el 40,9% (20). En soldados de Tailandia se encontró el parásito en el 44% de los individuos (21).

En Argentina diversos estudios dieron prevalencias del 27,2% en una población rural (22), 41,8% en niños y 48,2% en adultos de un mismo asentamiento (23), 37% en jardines de infantes (24) y 7,7% en poblaciones urbanas adultas (25).

Biología y morfología

Se han propuesto numerosas formas de ciclos evolutivos para *Blastocystis*, algunos controversiales y discutibles. Se ha planteado la existencia de múltiples formas

de multiplicación desde la esquizogonia, plasmotomía, endodiogenia, fisión binaria, entre otras y esto se debe fundamentalmente al polimorfismo que muestra el organismo (12) (26).

Un ciclo propuesto sugiere la existencia de genotipos zonóticos o subtipos (1 a 9) con varias especificidades en cuanto a los hospedadores.

El hombre y los animales adquirirían la infección mediante la ingesta de quistes, presentes en el ambiente y provenientes de la heces de otros individuos infectados. Esos quistes se transforman en el tracto digestivo hasta alcanzar el colon bajo la forma vacuolar o de cuerpo central. En el hombre estas formas se dividen por fisión binaria, (27) pudiendo evolucionar hacia las ameboidales o granulares (12).

Las formas vacuolares sufren un proceso de enquistamiento en el intestino, cubriéndose de una delgada capa fibrilar que se irá perdiendo gradualmente cuando se eliminan en el ambiente externo. Se carece de adecuada información acerca de los pasajes o transiciones de las formas ameboidal a vacuolar y de ésta a la quística, así como de la existencia de quistes de pared fina y gruesa como proponen algunos autores en forma similar a lo que ocurre, por ejemplo, con algunos coccidios intestinales como *Cryptosporidium spp.*

El modo de transmisión de *Blastocystis sp.* no ha sido determinado de manera definitiva, pero se asume que la transmisión ocurre por vía fecal – oral. Otros mecanismos posibles serían el consumo de agua o alimentos, manipuladores de los mismos e incluso vectores mecánicos como moscas (12) (13).

El hombre potencialmente podría contagiarse por 7 o más subtipos de *Blastocystis* y ciertos animales se comportarían como reservorios. La transmisión humano-humano también fue sugerida. Aunque los estudios muestran que la mayoría de los individuos son hospedadores de un subtipo en particular de *Blastocystis*, la infección por varios subtipos ha sido frecuentemente reportada (12).

Como se mencionó, una característica distintiva del parásito es el pleomorfismo.

Las formas parasitarias descritas al presente comprenden a las siguientes:

FORMA VACUOLAR O DE CUERPO CENTRAL

Es la forma más frecuentemente encontrada en las materias fecales de pacientes infectados. Generalmente es esférica, midiendo entre 2 a 200 micrones de diámetro (13) (28), aunque en algunos cultivos axénicos se han descrito formas gigantes de 400 micrones (26). La mayor parte del cuerpo está constituida por una vacuola cuya función no ha sido completamente dilucidada. En su composición se encuentran tanto lípidos como hidratos de carbono, por lo que se ha especulado con una posible función de reserva. Otros han propuesto que

juega un rol en los procesos de multiplicación parasitaria. La vacuola está rodeada de una fina capa de citoplasma que alberga organelas y varios núcleos. También ha sido descrita a menudo una cubierta superficial, que generalmente es gruesa en aislados frescos y más delgada en cultivos prolongados, que se supone le sirve al parásito para pegar bacterias a su superficie con fines nutritivos (26) (28).

FORMA GRANULAR

En tamaño es similar a la vacuolar, pero se caracteriza por la presencia de granulaciones citoplasmáticas y dentro de la vacuola. La composición de las granulaciones es variable, así como las funciones que se le atribuyen, tanto metabólicas como reproductivas. Es frecuentemente observada en cultivos con antibióticos o que no han sido axenizados (13) (26) (28).

FORMA AMEBOIDAL

Muestra una morfología irregular con 1 ó 2 seudópodos que estarían involucrados más en la fagocitación de bacterias que en la motilidad del organismo. Esta forma ha sido raramente informada en heces diarreicas (13) (26) (28).

FORMA QUÍSTICA

Es la de menor tamaño (2 a 5 micrones), de forma ovoidea o esférica y con una pared de múltiples capas que puede presentar, o no, otra cubierta laxa. En su interior se observan varios núcleos, pequeñas vacuolas y otras organelas. Son las formas más resistentes, pudiendo permanecer viables un mes a 25 °C y 2 meses a 4 °C (13) (27).

FORMA MULTIVACUOLAR

Presenta múltiples vacuolas pequeñas en el citoplasma, tiene un tamaño medio de 5 a 8 micrones, con 1 a 2 núcleos y puede observarse tanto en cultivos como en heces (13) (28).

FORMA AVACUOLAR

Carece de vacuolas en su citoplasma y tiene un tamaño de aproximadamente 5 micrones (13) (28).

Manifestaciones clínicas

Durante mucho tiempo se le atribuyó a *Blastocystis* un comportamiento no patógeno o comensal, pero cada vez es mayor el número de informes que le asignan un carácter patógeno con una amplia variedad de signos y

síntomas. Algunos de estos son inespecíficos y compartidos con otras parasitosis intestinales como náuseas, anorexia, dolor y distensión abdominales, flatulencias y diarreas agudas o crónicas (29)(30). No se han reportado casos de disentería por cuanto es un parásito no invasivo, como lo indican los estudios endoscópicos e histológicos efectuados en animales infectados experimentalmente (12). Cada vez más frecuentemente se le asigna un papel relevante en el síndrome de colon irritable (31)(32).

Algunos autores sugieren la asociación entre blastocistosis y erupciones cutáneas, urticaria aguda y crónica, angioedema y prurito palmoplantar, muchos de los cuales se acompañan de eosinofilia periférica (33-35). En varios casos, la resolución del cuadro clínico estuvo asociada a la eliminación del parásito con el tratamiento antiparasitario adecuado. Un posible mecanismo sugerido para estas manifestaciones, sería la estimulación, por moléculas del parásito, de células Th2 productoras de interleuquinas (IL-3, IL-4, IL-5, IL-13), que median respuestas alérgicas de IgE. También se postuló que moléculas de *Blastocystis* sp. serían capaces de activar las vías del complemento, con la generación de C3a y C5a, las cuales interactúan con mastocitos y basófilos, induciendo la liberación de histamina y la subsecuente aparición de las alteraciones cutáneas. También se deben considerar y estudiar posibles mecanismos alérgicos independientes de IgE, ya que otros estudios muestran que pacientes con urticaria asociada a *Blastocystis* sp. presentan títulos de IgE dentro del rango normal (12).

Si bien algunos estudios vinculan los síntomas gastrointestinales con los subtipos 1, 3 y 6, aún no se ha hallado una correlación concluyente entre el subtipo involucrado en la infección y las manifestaciones clínicas de los individuos infectados (36-39).

Algunos autores han sugerido una vinculación entre el carácter patógeno y el número de elementos parasitarios vacuolares encontrados en las preparaciones observadas microscópicamente con 400X (usualmente más de 5 organismos por campo). Sin embargo, actualmente se considera que la cuantificación parasitaria no está relacionada con la sintomatología, teniendo en cuenta, además, la eliminación discontinua de sus formas parasitarias en las infecciones intestinales (13).

Patogenia

El establecimiento de *Blastocystis* en el intestino grueso produce un proceso inflamatorio a nivel de la lámina propia induciendo la liberación de interleuquinas proinflamatorias como la IL-8. El hospedador presenta una respuesta inmune secretando IgA que puede contrarrestar la acción del parásito, pero éste produce una cistein-proteasa capaz de degradar a esa inmunoglobu-

lina. Además, *Blastocystis* secreta sustancias con capacidad de inducir apoptosis en las células del epitelio entérico. Por otra parte, provoca un rearrreglo de los filamentos de F-actina presentes en las uniones intercelulares entre las células epiteliales del colon, provocando una disrupción de la barrera que puede promover el crecimiento y desarrollo de los patógenos adyacentes (12)(40-42).

Diagnóstico

La aproximación más directa desde el laboratorio al diagnóstico de la blastocistosis es a través de los exámenes coproparasitológicos, empleando muestras seriadas, dada la irregularidad de eliminación de las formas parasitarias de *Blastocystis*. Pueden emplearse los métodos de enriquecimientos de sedimentación bifásicos. El uso de Lugol no aporta demasiado a la observación microscópica posterior, por cuanto la vacuola central de las formas vacuolares predominantes en las heces no se colorea con él. Se pueden emplear cloraciones permanentes como la tricrómica y hematoxilina férrica (43).

También pueden efectuarse cultivos axénicos en anaerobiosis, que aumentan la sensibilidad de la detección parasitaria (44).

Se han detectado IgG e IgA específicas en individuos infectados y así se han desarrollados métodos de IFI y ELISA para la evaluación de la infección (45).

Las técnicas moleculares permiten además una definición del subtipo presente en las muestras (5)(46)(47).

Conclusiones

A pesar de sus elevadas prevalencias y de las numerosas investigaciones desarrolladas sobre este parásito, aún permanecen sin dilucidar muchos aspectos de su biología, epidemiología y patogenicidad. Los estudios genéticos han permitido su nueva ubicación taxonómica y determinar el verdadero carácter zoonótico de *Blastocystis*. Aún queda pendiente establecer una relación fehaciente entre los diferentes subtipos y la patogenicidad. De todas maneras es importante tener en cuenta la necesidad de informar la presencia de este parásito en los estudios coproparasitológicos reservándole un rol como patógeno intestinal.

Referencias bibliográficas

1. Silberman JD, Sogin ML, Leipe DD, Clark CG. Human parasite finds taxonomic home. *Nature* 1996; 380: 98.
2. Hoeffers J, Holman P, Logan K, Hommel M, Ashford R, Snowden K. Restriction-fragment-length polymorphism

- analysis of small-subunit rRNA genes of *Blastocystis hominis* isolates from geographically diverse human hosts. *Parasitol Res* 2000; 86(1): 57-61.
3. 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.
 4. Thathaisong U, Worapong J, Mungthin M, Tan-Ariya P, Viputtigul K, Sudatis A, *et al.* *Blastocystis* isolates from a pig and a horse are closely related to *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol* 2003; 41(3): 967-75.
 5. Yoshikawa H, Abe N, Wu Z. PCR-based identification of zoonotic isolates of *Blastocystis* from mammals and birds. *Microbiology* 2004; 150(5): 1147-51.
 6. Yoshikawa H, Abe N, Iwasawa M, Kitano S, Nagano I, Wu Z, *et al.* Genomic analysis of *Blastocystis hominis* strains isolated from two long-term health care facilities. *J Clin Microbiol* 2000; 38(4): 1324-30.
 7. Abe N, Wu Z, Yoshikawa H. Zoonotic genotypes of *Blastocystis hominis* detected in cattle and pigs by PCR with diagnostic primers and restriction fragment length polymorphism analysis of the small subunit ribosomal RNA gene. *Parasitol Res* 2003; 90(2): 124-8.
 8. Yan Y, Su S, Ye J, Lai X, Lai R, Liao H, *et al.* *Blastocystis* sp. subtype 5: a possibly zoonotic genotype. *Parasitol Res* 2007; 101(6): 1527-32.
 9. Noel C, Dufernez F, Gerbod D, Edgcomb VP, Delgado-Viscogliosi P, Ho LC, *et al.* Molecular phylogenies of *Blastocystis* isolates from different hosts: implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. *J Clin Microbiol* 2005; 43(1): 348-55.
 10. Yoshikawa H, Wu Z, Nagano I, Takahashi Y. Molecular comparative studies among *Blastocystis* isolates obtained from humans and animals. *J Parasitol* 2003; 89(3): 585-94.
 11. Lee MG, Stenzel DJ. A survey of *Blastocystis* in domestic chickens. *Parasitol Res* 1999; 85(2): 109-17.
 12. Tan KS. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21(4): 639-65.
 13. Salinas JL, Vildozola Gonzales H. Infection by *Blastocystis*: a review. *Rev Gastroenterol Peru* 2007; 27(3): 264-74.
 14. Hirata T, Nakamura H, Kinjo N, Hokama A, Kinjo F, Yamane N, *et al.* Prevalence of *Blastocystis hominis* and *Strongyloides stercoralis* infection in Okinawa, Japan. *Parasitol Res* 2007; 101(6): 1717-9.
 15. Baldo E T, Belizario VY, De León WU, Kong H, Chung D. Infection status of intestinal parasites in children living in residential institutions in Metro Manila, Philippines. *Korean J Parasitol* 2004; 42(2): 67-70.
 16. Devera RA, Punos GN, Velásquez VJ, Catanese JA, Meneses RG. Prevalence of *Blastocystis hominis* infection in schoolchildren from Bolívar City, Venezuela. *Bol Chil Parasitol* 1997; 52(3-4): 77-81.
 17. Requena I, Hernandez Y, Ramsay M, Salazar C, Devera R. Prevalence of *Blastocystis hominis* among food handlers from Caroni municipality, Bolívar State, Venezuela. *Cad Saude Publica* 2003; 19 (6): 1721-7.
 18. Khan ZA, Alkhalife IS. Prevalence of *Blastocystis hominis* among “healthy” food handlers in Dammam, Saudi Arabia. *J Egypt Soc Parasitol* 2005; 35(2): 395-401.
 19. Su FH, Chu FY, Li CY, Tang HF, Lin YS, Peng YJ, *et al.* *Blastocystis hominis* infection in long-term care facilities in Taiwan: prevalence and associated clinical factors. *Parasitol Res* 2009; 105(4): 1007-13.
 20. Aguiar JI, Goncalves AQ, Sodre FC, Pereira Sdos R, Boia MN, de Lemos ER *et al.* Intestinal protozoa and helminths among Terena Indians in the State of Mato Grosso do Sul: high prevalence of *Blastocystis hominis*. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40(6): 631-4.
 21. Taamasri P, Leelayoova S, Rangsin R, Naaglor T, Ketupanya A, Mungthin M. Prevalence of *Blastocystis hominis* carriage in Thai army personnel based in Chonburi, Thailand. *Mil Med* 2002; 167(8): 643-6.
 22. Basualdo JA, Córdoba MA, de Luca MM, Ciarmela MI, Pezzani BC, Grenovero MS, *et al.* Intestinal parasitosis and environment factors in a rural population of Argentina, 2002-2003. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2007; 49: 251-5.
 23. Gamboa MI, Navone G, Kozubsky L, Costas ME, Cardozo M, Magistrello P. Protozoos intestinales en un asentamiento precario: manifestaciones clínicas y ambientes. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2009; 43 (2): 213-8.
 24. Kozubsky L, Costas ME, Magistrello P, Cardozo M, Navarro S, Morano MI, *et al.* Parasitosis intestinales en infantes y algunos determinantes ambientales. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2009; (Supl 1): 174.
 25. Costas ME, Kozubsky L, Navarro S, Cardozo M, Magistrello P, Flagel MS *et al.* Parasitosis intestinales en una población adulta. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2009; (Supl1):178.
 26. Zierdt CH. *Blastocystis hominis*—past and future. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4: 61-79.
 27. Moe KT, Singh M, Howe J, Ho LC, Tan SW, Chen XQ, *et al.* Development of *Blastocystis hominis* cysts into vacuolar forms *in vitro*. *Parasitol Res* 1999; 85(2): 103-8.
 28. Stenzel DJ, Boreham P F, Mc Dougall R. *Blastocystis hominis* revisited. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9(4): 563-84.
 29. Kaya S, Cetin ES, Aridogan BC, Arikian S, Demirci M. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*, a clinical reevaluation. *Turkiye Parazitoloj Derg* 2007; 31(3): 184-7.
 30. Stensvold CR, Nielsen HV, Smith HV. Pursuing the clinical impact of *Blastocystis*—diagnostic limitations. *Trends Parasitol* 2009; 25: 23-9.
 31. 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.
 32. Boorom KF, Smith H, Nimri L, Viscogliosi E, Spanakos G, Parkar U, *et al.* Oh my aching gut: irritable bowel syndrome, *Blastocystis*, and asymptomatic infection. *Parasit Vectors* 2008; 1(1): 40.
 33. Micheloud D, Jensen J, Fernandez-Cruz E, Carbone J. Angioedema crónico e infección por *Blastocystis hominis*. *Rev Gastroenterol Peru* 2007; 191-3.

34. Pasqui AL, Savini E, Saletti M, Guzzo C, Puccetti L, Austeri A. Chronic urticaria and *Blastocystis hominis* infection: a case report. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2004; 83: 117-20.
35. Valsecchi R, Leghissa P, Greco V. Cutaneous lesions in *Blastocystis hominis* infection. *Acta Derm Venereol* 2004; 84: 322-3.
36. Dogruman-AI F, Dagci H, Yoshikawa H, Kurt O, Demirel M. A possible link between subtype 2 and asymptomatic infections of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res* 2008; 103: 685-9.
37. Hussein EM, Hussein AM, Eida MM, Atwa MM. Pathophysiological variability of different genotypes of human *Blastocystis hominis* Egyptian isolates in experimentally infected rats. *Parasitol Res* 2008; 102(5): 853-60.
38. Vassalos CM, Spanakos G, Vassalou E, Papadopoulou C, Vakalis N. Differences in clinical significance and morphologic features of *Blastocystis sp* subtype 3. *Am J Clin Pathol* 2010 ;133(2): 251-8.
39. Souppart L, Moussa H, Cian A, Sancier G, Poirier P, El Alaoui H, *et al*. Subtype analysis of *Blastocystis* isolates from symptomatic patients in Egypt. *Parasitol Res* 2010; 106(2): 505-11.
40. Long HY, Handschack A, Konig W, Ambrosch A. *Blastocystis hominis* modulates immune responses and cytokine release in colonic epithelial cells. *Parasitol Res* 2001; 87: 1029-30
41. Puthia MK, Sio SW, Lu J, Tan KS. *Blastocystis ratti* induces contact-independent apoptosis, F-actin re-arrangement, and barrier function disruption in IEC-6 cells. *Infect Immun* 2006; 74: 4114-23.
42. Puthia MK, Vaithilingam A, Lu J, Tan KS. Degradation of human secretory immunoglobulin A by *Blastocystis*. *Parasitol Res* 2005; 97: 386-9.
43. Eymael D, Schuh GM, Giacomelli Tavares R. Standardization of *Blastocystis hominis* diagnosis using different staining techniques. *Rev Soc Bras Med Trop* 2010; 43(3): 309-12.
44. Clark CG, Diamond LS. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 329-41.
45. Zierdt CH, Zierdt WS, Nagy B. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibody to *Blastocystis hominis* in symptomatic infections. *J Parasitol* 1995; 81: 127-9
46. Yoshikawa H, Nagano I, Wu Z, Yap EH, Singh M, Takahashi Y. Genomic polymorphism among *Blastocystis hominis* strains and development of subtype-specific diagnostic primers. *Mol Cell Probes* 1998; 12: 153-9.
47. Menounos PG, Spanakos G, Tegos N, Vassalos CM, Papadopoulou C, Vakalis NC. Direct detection of *Blastocystis sp.* in human faecal samples and subtype assignment using single strand conformational polymorphism and sequencing. *Mol Cell Probes* 2008; 22(1): 24-9.

Aceptado para su publicación el 20 de agosto de 2010