

ARTÍCULO DE REVISIÓN

BLASTOCYSTIS HOMINIS: PARÁSITO ENIGMÁTICO**BLASTOCYSTIS HOMINIS: ENIGMATIC PARASITE**

Dra. Victoria Muñoz*, Dr. Carlos Frade**

RESUMEN

Blastocystis hominis es el protozoo que con mayor frecuencia se encuentra en las heces de las personas sintomáticas, asintomáticas, inmunocompetentes e inmunodeprimidos.

Este parásito presenta varias controversias e indefiniciones, especialmente, a nivel de su patogenicidad. Diferentes aspectos merece atención como la biología, el diagnóstico, mecanismo de transmisión, tratamiento y otros.

El desconocimiento o la poca importancia que se le da a este microorganismo por los profesionales del área de la salud son frecuentes.

Consideramos que *B. hominis* es digno de atención y en ese sentido, la presente revisión enfoca los siguientes aspectos: taxonomía, patogénesis, manifestaciones clínicas, diagnóstico, mecanismos de transmisión y tratamiento.

ABSTRACT

Blastocystis hominis is the protozoal infection most frequently found in stool samples of symptomatic, asymptomatic, immunocompetent and immunodeficient persons.

This parasite is ill defined, especially on the subject of his pathogenesis. Different aspect are worthy of attention like the diagnosis, mode of transmission and other characteristics.

Health personnel frequently fail to recognize this microorganism and give him little attention.

B. hominis needs our attention; this revision report the taxonomy, pathogenesis, clinical presentation, diagnosis, modes of transmission and treatment.

INTRODUCCIÓN

Blastocystis hominis es el agente causal de la blastocistosis, una parasitosis intestinal, con prevalencias elevadas en diferentes regiones del mundo.

Es el protozoo que se encuentra con mayor frecuencia en muestras de heces de personas sintomáticas, asintomáticas, inmunocompetentes e inmunosuprimidos^{1,2,3,4}. Lee (1991)⁵ indica que de todos los organismos observados en heces, *B. hominis* ocupa el segundo lugar en frecuencia, estando por debajo de las levaduras.

De acuerdo a nuestra experiencia, este parásito es el más frecuente en exámenes coproparasitológicos de muestras provenientes de manipuladores de alimentos de los diferentes mercados de la zona sud de la ciudad

de La Paz, exámenes realizados en el laboratorio de Parasitología de la Cátedra de Parasitología del Dpto. de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad Mayor de San Andrés.⁶

Desde su primera descripción hace 84 años, persisten las controversias e indefiniciones sobre este protozoo, originadas por el poco conocimiento principalmente de su ciclo biológico, mecanismo de transmisión, su papel como patógeno primario y su ubicación taxonómica.

Un gran número de médicos, bioquímicos, técnicos de laboratorio y profesionales que ejercen actividades en el ámbito de la salud pública desconocen aspectos de participación de este parásito, no se registra la presencia del parásito en los resultados de exámenes coproparasitológicos, porque lo señalan tácitamente como comensal, sin tomar en cuenta la aparición de un número creciente de publicaciones que lo señalan como un potencial parásito en ausencia de otro agente etiológico que explique las manifestaciones clínicas.

* Docente Investigador PhD, Cátedra de Parasitología, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, UMSA. E mail: victoriamuo@hotmail.com

** Médico Otorrinolaringólogo. Centro de Especialidades. Caja Nacional de Salud. La Paz, Bolivia

Es muy importante que los estudios científicos actualizados y las prácticas correctas sobre blastocistosis sean divulgados en beneficio de los afectados.

En ese sentido, los siguientes aspectos, se enfocarán en este artículo: taxonomía, patogénesis, manifestaciones clínicas, diagnóstico, mecanismos de transmisión y tratamiento.

TAXONOMÍA

Este protozoo intestinal fue descrito por primera vez por Alexieff en 1911 como un hongo imperfecto de la clase de los Adelomicetos, al que denomina *Blastocystis enterocola*⁷. En 1912 Brumpt⁸ analizando heces humanas observa al parásito y le da el nombre de *B. hominis*.

Por mucho tiempo fue clasificado como hongo no patógeno, confundido con una célula degenerada o un artefacto o quistes de otros protozoarios.

Es Zierdt et al. (1967)⁹ que lo ubican dentro del grupo de los protozoarios tomando en cuenta características culturales, morfológicas y fisiológicas; sugiriendo además su posible papel como patógeno primario. En homenaje a este investigador y a Garavelli, la blastocistosis es conocida también como enfermedad de Zierdt-Garavelli¹⁰.

Gracias a estudios moleculares, dirigidos a obtener una clasificación correcta, Nakamura et al., (1996)¹¹ realizando la secuenciación de aminoácidos de un gen altamente conservado (factor de elongación-1), descartan la posibilidad de que *B. hominis* sea un hongo.

El mismo año Silberman et al. (1996)¹², después de realizar la secuencia génica de la ssARNr, indican que este protozoo puede ser incluido en el grupo de los Heterokonta o Stramenopiles, pese a que posee mitocondrias (*B. hominis* es un anaerobio estricto) y no presenta flagelos. Este grupo complejo incluye a las algas marrones, diatomeas y otros protistas uni y multicelulares. Más recientemente los estudios de Arisue et al. (2002)¹³ y Noël et al. (2003)¹⁴ confirman la inclusión de *B. hominis* en este grupo.

Cavalier-Smith en 1998¹⁵ sugiere la siguiente clasificación taxonómica: Reino Chromista, Subreino Chromobiota, Infrareino Heterokonta o Stramenopiles, Subphylum Opalinata, Clase Blastocystea, Género *Blastocystis*.

Para terminar con las controversias sobre las afinidades filogenéticas de *B. hominis* se requiere más estudios con nuevos genes candidatos y un mayor número de aislados.

PATOGÉNESIS

La patogenicidad de este organismo es polémica, diferentes datos apoyaron la noción de que *B. hominis* es un parásito comensal^{16,17,18,19}. Pero, en los últimos años se ha incrementado las referencias que consideran a este microorganismo como causante de enfermedad^{20,21,22,23}.

Se sugiere que *B. hominis* podría ser un patógeno oportunista en pacientes inmunodeprimidos, y es evidente que ha sido encontrado con gran frecuencia en muestras fecales de individuos inmunosuprimidos, especialmente en pacientes con HIV/sida^{24,25,26,27,28}.

En relación a la presencia de este parásito con otras inmunodeficiencias, no son muchas las publicaciones y en su mayoría son artículos de reporte de casos. Noureldin et al. (1999)²⁹ determinó que uno de los protozoos intestinales más frecuentes en niños inmunocomprometidos (niños con síndrome nefrótico, que recibieron corticoides por más de un mes, con malnutrición proteino-calórica y con linfoma) fue este protozoo. Rao et al. (2003)³⁰ reporta dos casos de diarrea, causados por *B. hominis* en individuos que fueron sometidos a un trasplante renal.

Chen et al. (2003)³¹ a través de un análisis multivariado revelan que la infección crónica con hepatitis B, fue una condición predisponente a la adquisición de *B. hominis* y entre los individuos que se hicieron una biopsia gástrica, el *Helicobacter pylori* fue encontrado con mayor frecuencia en las personas que tiene este protozoo.

También se constató que en pacientes con diabetes, carcinoma, lupus eritematoso o con cirrosis alcohólica infectados con *B. hominis*, los síntomas fueron más severos³⁹.

Se conoce muy poco sobre los determinantes de patogenicidad, sin embargo diferentes estudios tratan de dar una explicación.

Garavelli et al. (1991)³² analizando datos de endoscopia y biopsia, indicaron que **B. hominis** no invade la mucosa del colon en humanos y sugirieron que la infección por este microorganismo depende

de la interacción entre el sistema inmune y propusieron una acción tóxico-alérgica, que daría lugar a una inflamación inespecífica y edema de la mucosa colónica. En contraste con estos resultados un reporte describe ulceración colónica determinado por colonoscopia y biopsia, se encontró sólo *B. hominis* en las úlceras superficiales y en el infiltrado de la superficie de la lámina propia y en los espacios glandulares⁹⁸.

Varios autores describen factores que apoyan la patogenicidad, como alteraciones endoscópicas, colitis e ileítis terminal y alteraciones histológicas que presentan diferentes grados de inflamación^{33,34,35}.

Otro estudio a favor de la patogenicidad de *B. hominis* es el de Dagci et al. (2002)³⁶, utilizando DTPA (dietil-triamina-penta-ácido acético) marcada con tecnecio 99m, refieren, que en pacientes parasitados hubo un incremento de la permeabilidad intestinal significativo estadísticamente, deduciéndose indirectamente que hubo daño intestinal.

La remisión de la sintomatología y la aclaración de las heces, después de un tratamiento, también se constituye en un apoyo a la patogenicidad de este parásito.^{35,37}

El parásito podría señalarse como responsable de las manifestaciones clínicas en todo paciente que cumpla con los siguientes criterios.³⁸

- 1) *B. hominis* numerosos en muestras fecales. Diferentes estudios^{39,40} sugieren que más de 5 células por campo de 40x se asocia con síntomas de muchos pacientes. Pero, otros autores no observan correlación entre el número de *B. hominis* en heces y la aparición de síntomas^{41,42,43}. Esto parecería innecesario puesto que no hay firmes evidencias que la patogenicidad de *B. hominis* este relacionado con el número de células.
- 2) Presencia de formas vacuolares grandes en las heces del paciente.
- 3) Ausencia de otras causas (funcionales, otros parásitos, bacterianas, virales, micóticas) que expliquen la sintomatología.
- 4) Desaparición de los síntomas después del tratamiento antiparasitario específico.

Algunos autores sugieren que la autolimitación natural y la desaparición espontánea del parásito se deben a una inmunidad protectora. Esto podría

explicar las tasas de infección bajas en niños mayores y adultos, reflejando una inmunidad inducida por infecciones previas. Aunque otros estudios han encontrado tasas elevadas de infección en adultos y en niños.^{41,57,23,99}

Se constató que el genotipo de los aislados de *B. hominis* es altamente polimórfico, por lo que se supone la presencia de poblaciones del parásito con diferente potencial patógeno.^{44,45,46} Y es posible que ciertos estados del ciclo de vida del parásito sean responsables de los síntomas humanos. A la fecha es prudente considerar a *B. hominis* como un potencial patógeno.¹⁰

ASPECTOS RELACIONADOS CON LA CLÍNICA

La manifestación clínica más frecuente asociada a este parásito, es la diarrea, que puede ser acuosa profusa especialmente en casos agudos^{19,22,23}, leve, autolimitada y crónica, con una duración entre 3 a 10 días o de varias semanas.

Otras síntomas también inespecíficos, frecuentemente, atribuidos a este microorganismo son: dolor abdominal, náuseas, vómitos, molestias abdominales^{7,10}. Los síntomas que fueron reportados algunas veces fueron: fatiga, flatulencia, anorexia, tenesmo, constipación, prurito anal, baja de peso, malestar general, leucocitos en heces, sangre en deposiciones, eosinofilia periférica, nivel bajo de leucocitos, hemoglobina y hematocrito reducido.^{31,39,47,48}

Tungtrongchitr et al. (2004)⁴⁹, Yakoob et al. (2004)⁵⁰, al investigar la etiología del síndrome irritativo intestinal, constataron que pacientes con esta afección tenían un predominio de *B. hominis* en muestras fecales, pero la significancia de este resultado tiene que ser investigada.

También se le atribuye otros síntomas extradigestivos menos frecuentes, como las manifestaciones alérgicas²⁰, urticaria^{21,51}. Lee et al. (1990)⁵² y Lakhanpal et al. (1991)⁵³ dieron a conocer casos de artritis por *B. hominis*. Nasser et al. (2004)⁵⁴ indican que *B. hominis* podría ser el causante de hipoalbuminemia y anasarca. Valsecchi et al. (2004)⁵⁵ relacionan una lesión cutánea con infección de *B. hominis*. Estos reportes están basados en uno o dos casos estudiados.

MECANISMOS DE TRANSMISIÓN

Se sugiere que la transmisión de *B. hominis* al hombre es por la vía fecal-oral^{56,57}. Suresh et al.

(1993)⁵⁸ constataron que animales inoculados con las formas quísticas de *B. hominis* posteriormente eliminaban el parásito por las heces. Estudios recientes de Yoshikawa et al. (2004)⁵⁹ demuestran la transmisión fecal-oral en ratas con quistes de este protozoario. De esta manera se confirma esta vía de transmisión.

Diferentes estudios asocian la presencia de este protozoario con el consumo de agua no tratada.^{60,61} Zaman et al. (1994)⁶² identificaron y aislaron *B. hominis* del alcantarillado.

También se reporta la asociación de *B. hominis* con alimentos contaminados con excremento de animales^{63,64}. Se sugiere además la existencia de reservorios animales, la posibilidad de transmisión interhumana por manos sucias, relación orogenital y oroanal. Devera et al. (1999)⁶⁵ sugiere que los cerdos podrían actuar como reservorios de *B. hominis*.

Abe et al. (2003)⁶⁶ obtuvieron 22 aislados de *Blastocystis* de ganado y cerdo que fueron genotipados por PCR usando primers de diagnóstico y la homología entre los aislados fue confirmada por el análisis del gen de la pequeña subunidad ribosomal RNA utilizando el método de RFLP (Restriction fragments length polymorphism). Encontraron que 31,8% de los aislados examinados fueron genotipos zoonóticos de *B. hominis*. El estudio nos indica que los organismos de *Blastocystis* presentes en el ganado vacuno y cerdos son una fuente de infección humana.

Últimos resultados de Abe (2004)⁶⁷ aplicando estudios moleculares (secuenciación de SSUrDNA) de 19 aislados de *B. hominis* de animales y después de una relación filogenética entre los aislados de humanos y animales aseveran que muchos de los aislados albergados en animales tienen un potencial zoonótico, o tienen una transmisibilidad cruzada entre hospederos heterogeneos, esta conclusión contribuye a reforzar sus trabajos anteriores. Noel et al. (2005)¹⁰⁰ confirma la baja especificidad de hospedero y sus resultados apoyan las conclusiones de Abe; la existencia de numerosos aislados zoonóticos con transmisión frecuente de animal a humano y de humano a animal, siendo los reservorios potenciales los animales para infecciones en humanos.

La transmisión interhumana se evidencia en un estudio realizado por Yoshikawa et al. (2000)⁶⁸ en el

que al comparar el genoma de cepas procedentes de dos centros de salud diferentes, observaron que el intercambio humano venía acompañado de intercambio de cepas; por lo que consideran la infección por *B. hominis* como una antroponosis.

DIAGNÓSTICO

El conocimiento de la morfología de *B. hominis* es fundamental en el diagnóstico de esta parasitosis. Se sabe que la forma vacuolar tiene un rango de tamaño que varía entre 6-40µm, estudios recientes indican que las formas encontradas en muestras fecales frescas, podrían ser más pequeñas que el rango mencionado y podrían observarse en mayor proporción formas multivacuolares. Las formas quísticas son más pequeñas (3-5 µm de diámetro), estas podrían tener una variación significativa en placas teñidas por la aparición de inclusiones lipídicas y depósitos de glicógeno²⁴.

Para detectar la presencia de *B. hominis* en heces, los métodos apropiados son: el examen microscópico directo con solución salina al 0,85% o con lugol y la preparación permanente coloreada con hematoxilina férrica^{69,70}.

Hay opiniones contrarias sobre la aplicación de los métodos de concentración, los métodos más apropiados serían, el de Fausts y colaboradores y el de Lutz, si se utilizan muestran con formol tamponado al 10%^{24,70}.

Fueron investigadas diversas tinciones utilizando colorantes como el Giemsa⁹, Wright y tricrómico de Wheatley^{71,72}, hematoxilina-eosina, mertiolato-yodoformol (MIF)^{73,74}. Suresh et al. (1994)⁷⁵ utilizan la naranja de acridina para diferenciar entre distintos estadios de *B. hominis*. Khalifa (1999)⁷⁶, comparando 5 diferentes técnicas de tinción indica que los mejores colorantes para observar *B. hominis* serían: Azul metileno - safranina y la de Zielhl - Neelsen modificado, permitiendo identificar en forma rápida y fácil quistes y formas ameboides.

Sin embargo el cultivo in vitro de *B. hominis* ha aumentado la sensibilidad de la detección^{77,78,79}, en relación al método directo, el cual es rutinariamente aplicado en la mayoría de los laboratorios. Así, Termmathurapoj et al. (2004)⁸⁰, utilizaron los cultivos in vitro como gold standar para la detección de *B. hominis* en muestras de heces, obtuvieron para los métodos de observación simple y la tinción tricrómica una sensibilidad de 16.75 y 40.2% y una

especificidad de 94% y 80.4% respectivamente. Los cultivos in vitro también permiten aplicar el método de PCR para la detección de *B. hominis* en muestras de heces, y además son útiles para posteriores estudios moleculares del parásito.

La cuantificación de los parásitos que aparecen por campo microscópico, estaría relacionada con la aparición de síntomas. Para determinar el número de células de *B. hominis*, se debe contar 10 campos con objetivo de 40x, estando distribuidos sobre la preparación de la siguiente forma: dos en cada una de las esquinas, para un total de 8, y dos en el centro de la lámina, posteriormente se obtiene el promedio de las células observadas en esos campos, se informa el resultado como más de cinco células por campo o menos de cinco células por campo^{38,40}. Las cifras inferiores a cinco células por campo, no se las debe desdénar o considerar insignificantes como ocurrió con diferentes estudios.

Recordamos que la emisión de *B. hominis* se produce en forma discontinua¹⁰¹, por lo que es importante analizar más de una muestra para evitar falsos negativos, el agua y diversas soluciones lisan al protozoario, produciendo falsos negativos⁸⁸.

En la observación microscópica, la forma vacuolar de *B. hominis* es la que se observa con mayor frecuencia en las muestras fecales^{6,40,82}. También se observan muestras en las que predominan quistes, pero, son menos frecuentes⁸³.

Las pruebas serológicas para identificar las personas infectadas con *B. hominis*, no tuvieron el éxito esperado. Finalmente, el buen diagnóstico de *B. hominis* es un desafío.

TRATAMIENTO

Mientras continúe la controversia sobre la patogenicidad del parásito, no hay un acuerdo en el tratamiento de *B. hominis*.

Los motivos por los cuales no se sugiere el tratamiento son la curación biológica espontánea, el carácter autolimitado de la infección y en los portadores asintomáticos.^{7,84,85}

Diferentes autores aconsejan tratamiento en pacientes sintomáticos sin considerar el estado inmunitario y fundamentalmente cuando hay persistencia o recurrencia de síntomas, el surgimiento de eosinofilia y la presencia de numerosos parásitos.^{33,48,86,84}

Una variedad de drogas antiparasitarias se utilizaron para el tratamiento en las infecciones por *B. hominis*, la más utilizada es el metronidazol en dosis de 250 y 750 mg/8h/vo durante 5 a 10 días^{32,38,87}, dosis que puede ser aumentada en caso de blastocistosis crónica. Zierdt (1991)⁷, Garavelli et al. (1991)³² refieren recidivas. Zaman y Zaki (1996)⁸⁸ manifiestan la importancia de contar con drogas que eviten las recidivas y reduzcan el riesgo de transmisión e indican que el metronidazol no es eficaz in vitro a la dosis de más de 5mg/ml sobre los quistes presentes en heces.

Estudios sobre la resistencia in vitro del parásito al metronidazol y otras drogas fueron dados a conocer. Haresh et al. (1999)⁸⁹ encontraron diferentes grados de resistencia de aislados de *B. hominis* provenientes de Indonesia, Bangladesh, Singapur y Malasia a distintas concentraciones de metronidazol. Yakoob et al. (2004)⁵⁰ también detectaron diversos grados de resistencia a la furazolidona (32%), metronidazol (40%) y ciprofloxacina (100%) a la concentración de 0.01mg/ml.

Otras alternativas de tratamiento de la blastocistosis que fueron investigadas son: el dihidrocloro emetina, furazolidona, satranidazol y S75 0400^{a 90}, la paromomicina, a dosis de 25 mg/kg/vo cada 8 horas durante 5 a 10 días¹⁴, ketaconazol⁹¹, el iodoquinol⁹², iodoquinolona⁸⁴, cotrimoxazol^{93,94}, furazolidona⁹⁵, rifaximina⁹⁶. Díaz et al. (2003)⁹⁷ administraron nitazoxanida, antiparasitario de amplio espectro, a un grupo de niños infectados con diferentes protozoos (entre ellos *B. hominis*) y helmintos, el medicamento fue bien tolerado y no se reportaron efectos adversos serios. Cimerman et al. (2003)²⁷, trató a un paciente infectado por HIV y *B. hominis* con esta misma droga a la concentración de 1g/día fraccionado en intervalos de 12 horas por 3 días consecutivos, observando una evolución satisfactoria.

CONCLUSIONES

En los últimos años se han incrementado el número de investigaciones sobre *B. hominis*, en esta revisión se pretendió resumir diferentes trabajos importantes generados hasta la fecha, los datos nos muestran que la controversia sobre distintos aspectos del parásito continúa.

Es importante y deseable, que el conocimiento de *B. hominis* se divulgue para evitar procedimientos no adecuados y se tomen medidas correctas. Se

sugiere que los últimos descubrimientos puedan ser dados a conocer en textos de enseñanza de los estudiantes de las diferentes facultades relacionadas con la salud. Los profesionales que trabajan en el laboratorio clínico deben estar informados sobre el parásito y los investigadores que hayan trabajado con este protozoo divulguen sus experiencias.

animales, un conocimiento detallado de la biología es esencial para definir métodos de diagnóstico, tratamiento y control, etc) en los próximos años para romper con el enigma de este microorganismo y quede debidamente situado en el contexto de la salud pública. Es evidente que este microorganismo dará sorpresas en los próximos años.

Nuevos estudios son necesarios (en el ciclo biológico y la clínica se requieren apropiados modelos

REFERENCIAS

1. Noureldin MS, Shaltout AA, El Hamshary EM, Ali ME. Opportunistic intestinal protozoal infections in immunocompromised children. J Egypt Soc Parasitol 1999; 29:951-61.
2. Wang LC. Changing patterns in intestinal parasitic infections among Southeast Asian laborers in Taiwan. Parasitol Res. 2004; 92:18-21.
3. Kwa BH, Aviles R, Tucker MS, Sanchez JA, Isaza MG, Nash BN, Price DL, DeBaldo AC, Stockton MB, Fennell EM. Surveillance for enteric parasites among U.S. military personnel and civilian staff on Joint Task Force Base-Bravo in Soto Cano, Honduras and the local population in Comayagua and La Paz, Honduras. Mil Med 2004; 169:903-8.
4. Raso G, Utzinger J, Silue KD, Ouattara M, Yapi A, Toty A, Matthys B, Vounatsou P, Tanner M, N'Goran EK. Disparities in parasitic infections, perceived ill health and access to health care among poorer and less poor schoolchildren of rural Cote d'Ivoire. Trop Med Int Health 2005; 10:42-57.
5. Lee MJ. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*. J Clin Microbiol 1991; 29: 2089.
6. Muñoz V, Frade C, Aguirre C. *Blastocystis hominis* entre las vendedoras de los mercados de la zona sud de la ciudad de La Paz. En prensa.
7. Zierdt CH. *Blastocystis hominis*. Past and Future. Clin Microbiol Rev 1991; 4: 61-79.
8. Cimerman B, Cimerman S. Parasitología Humana. 2da ed. São Paulo: Atheneu; 2002.
9. Zierdt CH, Rude WS, Bull BS. Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. Am J Clin Pathol 1967; 48:495-501.
10. Boreham PF, Stenzel DJ. The current status of *Blastocystis hominis*. Parasitol Today 1993; 9: 251.
11. Nakamura Y, Hashimoto T, Yoshikawa H, Kamaishi T, Nakamura F, Okamoto K, Hasegawa M. Phylogenetic position of *Blastocystis hominis* that contains cytochrome free mitochondria, inferred from the protein phylogeny of elongation factor 1_. Mol Biochem Parasitol 1996; 77:241-5.
12. Silberman JD, Sogin ML, Leipe DD, Clark CG. Human parasite finds taxonomic home. Nature 1996; 380:98.
13. Arisue N, Hashimoto T, Yoshikawa H, Nakamura Y, Nakamura G, Nakamura F, Yano TA, Hasegawa M. Phylogenetic position of *Blastocystis hominis* and of Stramenopiles inferred from multiple molecular sequence data. J Eukaryot Microbiol 2002; 49:42-53.
14. Noël C, Peyronnet C, Gerbod D, Edgcomb VP, Delgado-Viscogliosi P, Sogin ML, Capron M, Viscogliosi E, Zenner L. Phylogenetic analysis of *Blastocystis* isolates from different hosts based on the comparison of small-subunit rRNA gene sequences. Mol Biochem Parasitol 2003; 126:119-23.
15. Cavalier-Smith T. A revised six-kingdom system of life. Biol Rev Camb Philos Soc 1998; 73:203-266
16. Grossman I, Weiss LM, Simon D, Tanowitz HB, Wittner M. *Blastocystis hominis* in hospital employees. Am J Gastroenterol 1992; 87:729-32.
17. Pena MJ, Elcuaz R, Cañas A, Bordes A, Lafarga B. Características clínicoepidemiológicas de la infección por *Blastocystis hominis*. Enferm Infecc Microbiol Clin 1992; 10: 6.
18. Udkow MP, Markell EK. *Blastocystis hominis*: Prevalence in asymptomatic versus symptomatic hosts. J Infect Dis 1993; 168:242-4.
19. Logar J, Andlovic A, Poljsak-Prijatelj M. Incidence of *Blastocystis hominis* in patients with diarrhoea. J Infect 1994; 28:151-.

20. Giacometti A, Cirioni O, Antonicelli L, D'Amato G, Silvestri C, Del Prete MS, Scalise G. Prevalence of intestinal parasites among individuals with allergic skin diseases. *J Parasitol* 2003; 89:490-2.
21. Barahona RL, Maguina Vargas C, Naquira Velarde C, Terashima IA, Tello R. Human blastocystosis: prospective study symptomatology and associated epidemiological factors. *Rev Gastroenterol Peru* 2003; 23:29-35.
22. Miller SA, Rosario CL, Rojas E, Scorza JV. Intestinal parasitic infection and associated symptoms in children attending day care centres in Trujillo, Venezuela. *Trop Med Int Health* 2003; 84:342-7.
23. Nimri LF, Meqdam M. Enteropathogens associated with cases of gastroenteritis in a rural population in Jordan. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10:634-9.
24. Stenzel DJ, Boreham PFL. *Blastocystis hominis* revisited. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 563-84.
25. Tan KS, Singh M, Yap EH. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. *Int J Parasitol* 2002; 32: 789-804.
26. Mohandas, Sehgal R, Sud A, Malla N. Prevalence of intestinal parasitic pathogens in HIV-seropositive individuals in Northern India. *Jpn J Infect Dis* 2002; 55:83-4.
27. Cimerman S, Teixeira MC, Luliano WA. Blastocistose: nitazoxanida como nova opção terapêutica. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36:415-7.
28. Zali MR, Mehr AJ, Rezaian M, Meamar AR, Vaziri S, Mohraz M. Prevalence of intestinal parasitic pathogens among HIV-positive individuals in Iran. *Jpn J Infect Dis* 2004; 57:268-70.
29. Noureldin MS, Shaltout AA, El Hamshary EM, Ali ME. Opportunistic intestinal protozoal infections in immunocompromised children. *J Egypt Soc Parasitol* 1999; 29:951-61.
30. Rao K, Sekar U, Iraivan KT, Abraham G, Soundararajan P. *Blastocystis hominis*—an emerging cause of diarrhoea in renal transplant recipients. *J Assoc Physicians India* 2003; 51:719-21.
31. Chen TL, Chan CC, Chen HP, Fung CP, Lin CP, Chan WL, Liu CY. Clinical characteristics and endoscopic findings associated with *Blastocystis hominis* in healthy adults. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 69:213-6.
32. Garavelli PL, Scaglione L, Bicocchi R, Libanore M. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*. *Infection* 1991; 19:185.
33. Russo AR, Stone SL, Taplin ME, Snapper HJ, Doern GV. Presumptive evidence for *Blastocystis hominis* as a cause of colitis. *Arch Intern Med* 1988; 148:1064.
34. Tsang TK, Levin BS, Morse SR. Terminal ileitis associated with *Blastocystis hominis* infection. *Am J Gastroenterol* 1989; 84:798-9.
35. Carrascosa M, Martínez J, Pérez-Castrillón JL. Hemorrhagic Proctosigmoiditis and *Blastocystis hominis* Infection. *Ann Intern Med* 1996. 124:278-9.
36. Dagci H, Ustun S, Taner MS, Ersoz G, Karacasu F, Budak S. Protozoon infections and intestinal permeability. *Acta Trop* 2002; 81:1-5.
37. Levy Y, George J, Shoenfeld Y. Severe *Blastocystis hominis* in an elderly man. *J Infect* 1996; 33:57-9.
38. Devera RA, Velásquez VJ, Vásquez M, Azacón B, Jiménez M. *Blastocystis hominis*: criterios de patogenidad. Saber, Universidad de Oriente, Venezuela 2000; 12:23-8.
39. Sheehan DJ, Raucher BG, McKittrick JC. Association of *Blastocystis hominis* with signs and symptoms of human disease. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 548-50.
40. Michelli E, De Donato M. Prevalencia de *Blastocystis hominis* en habitantes de Río Caribe, Estado Sucre, Venezuela. Saber, Universidad de Oriente, Venezuela 2001; 13:105-12.
41. Doyle PW, Helgason MM, Mathias RG, Proctor EM. Epidemiology and pathogenicity of *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol* 1990; 28:116-21.
42. Senay H, MacPherson D. *Blastocystis hominis*: Epidemiology and natural history. *J Infect Dis* 1990; 162:987-90.
43. Carbajal JA, Villa J, Lanuza, MD, Esteban, JG, Muñoz C, Borrás R. Significancia Clínica de la infección por *Blastocystis hominis*. *Med. Clín* 1997; 108:608-12.
44. Clark CG. Extensive genetic diversity in *Blastocystis hominis*. *Mol Biochem Parasitol* 1997; 87:79-83.
45. Kaneda Y, Horiki N, Cheng XJ, Fujita Y, Maruyama M, Tachibana H. Ribodemes of *Blastocystis hominis* isolated in Japan. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65:393-6.

46. Yoshikawa H, Wu Z, Kimata I, Iseki M, Ali IK, Hossain MB, Zaman V, Haque R, Takahashi Y. Polymerase chain reaction-based genotype classification among human *Blastocystis hominis* populations isolated from different countries. *Parasitol Res* 2004; 921:22-9.
47. Garavelli PL, Scaglione L, Bicocchi R, Libanore M. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*. *Infection* 1991; 19: 185.
48. Pedro-Botet JP, Auguet T, Rubiés- Prat J. *Blastocystis hominis*: A controversial enteric protozoan. *Clin Gastroenterol* 1992; 14:88.
49. Tungtrongchitr A, Manatsathit S, Kositchaiwat C, Ongrotchanakun J, Munkong N, Chinabutr P, Leelakusolvong S, Chaicumpa W. *Blastocystis hominis* infection in irritable bowel syndrome patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004; 353:705-10.
50. Yakoob J, Jafri W, Jafri N, Khan R, Islam M, Beg MA, Zaman V. Irritable bowel syndrome: in search of an etiology: role of *Blastocystis hominis*. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 704:383-5.
51. Pasqui AL, Savini E, Saletti M, Guzzo C, Puccetti L, Auteri A. Chronic urticaria and blastocystis hominis infection: a case report. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2004; 83:117-20.
52. Lee MG, Rawlins SC, Didier M, DeCeulaer K. Infective arthritis due to *Blastocystis hominis*. *Ann Rheum Dis* 1990; 49:192-3.
53. Lakhanpal S, Cohen SB, Fleischmann RM. Reactive arthritis from *Blastocystis hominis*. *Arthritis Rheum* 1991; 34:251-3.
54. Nassir E, Awad J, Abel AB, Khoury J, Shay M, Lejbkowitz F. *Blastocystis hominis* as a cause of hypoalbuminemia and anasarca. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004; 235:399-402.
55. Valsecchi R, Leghissa P, Greco V. Cutaneous lesions in *Blastocystis hominis* infection. *Acta Derm Venereol*. 2004; 84:322-3.
56. Stenzel D, Boreham P. *Blastocystis hominis* Revisited. *Clin Microbiol Rev* 1986; 9:563-84.
57. Ashford R, Atkinson E. Epidemiology of *Blastocystis hominis* in Papua New Guinea: age-prevalence and associations with other parasites. *Ann Trop Med Parasitol* 1992; 86:129-36.
58. Suresh K, Ng GC, Ramachandran NP, Ho LC, Yap EH, Singh M. In vitro encystment and experimental infections of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res* 1993; 79: 456-60.
59. Yoshikawa H, Yoshida K, Nakajima A, Yamanari K, Iwatani S, Kimata I. Fecal-oral transmission of the cyst form of *Blastocystis hominis* in rats. *Parasitol Res* 2004;94:391-6.
60. Taamasri P, Mungthin M, Rangsin R, Tongupprakarn B, Areekul W, Leelayoova S. Transmission of intestinal blastocystosis related to the quality of drinking water. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2000; 31:112-7.
61. Leelayoova S, Rangsin R, Taamasri P, Naaglor T, Thathaisong U, Mungthin M. Evidence of waterborne transmission of *Blastocystis hominis*. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 70:658-62.
62. Zaman V, Khan KZ, Khan MA. Isolation of *Blastocystis hominis* from sewage. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1994; 25:211-2.
63. Garavelli PL, Scaglione L. Blastocystosis. An epidemiological study. *Microbiologica* 1989; 12:349-50.
64. Casemore DP. Foodborne protozoal infection. *Lancet* 1990; 336:1427-32.
65. Devera R, Requena I, Velásquez V, Castillo H, González R. Cerdos como reservorios de *Blastocystis* spp. en una comunidad rural del Estado Bolívar, Venezuela. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1999; 17:422.
66. 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; 90:124-8.
67. Abe N. Molecular and phylogenetic analysis of *Blastocystis* isolates from various hosts. *Vet Parasitol* 2004; 120:235-42.
68. Yoshikawa H, Abe N, Iwasawa M, Kitano S, Nagano I, Wu Z, Takahashi Y. Genomic analysis of *Blastocystis hominis* strains isolated from two long-term health care facilities. *J Clin Microbiol* 2000; 38:1324-30.
69. Amato Neto V, Alarcón RSR, Gayika E, Becerra CR, Ferreira SC, Braz AML. Blastocistose: controversias e indefinições. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37:354-6.
70. Amato Neto V, Alarcón RSR, Gayika E, Ferreira SC, Becerra CR, Santos GA. Elevada porcentagem de blastocistose em escolares de São Paulo, SP. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37:354-6.
71. Jensen B, Kepley W, Guarner J, Anderson K, Anderson D, Clairmont J, De L'Aune W, Austin EH, Austin GE. Comparison of polyvinyl alcohol fixative with three less hazardous fixatives for detection and identification of intestinal parasites. *J Clin Microbiol* 2000; 38:1592-98.

72. Windsor JJ, Macfarlane L, Hughes-Thapa G, Jones SK, Whiteside TM. Incidence of *Blastocystis hominis* in a faecal samples submitte for routine microbiological analysis. Br J Biomed Sci 2002; 59:154-7.
73. Babcock D, Houston R, Kumaki D, Shlim D. *Blastocystis hominis* in Kathmandu, Nepal. N Engl J Med 1985; 313:1419.
74. Reinthaler FF, Linck G, Klem G, Mascher F, Sixl W. Intestinal parasites in children with diarrhea in El Salvador. Geogr Medical 1988; 18:175-80.
75. Suresh K, Ng GC, Ho LC, Yap EH, Singh M. Differentiation of the various stages of *Blastocystis hominis* by acridine orange staining. Int J Parasitol 1994; 24:605-6.
76. Khalifa AM. Diagnosis of *Blastocystis hominis* by different staining techniques. J Egypt Soc Parasitol. 1999; 29:157-65.
77. Leelayoova S, Taamasri P, Rangsin R, Naaglor T, Thathaisong U, Mungthin M. In-vitro cultivation: a sensitive method for detecting *Blastocystis hominis*. Ann Trop Med Parasitol. 2002; 96:803-7.
78. Suresh K, Smith H. Comparison of methods for detecting *Blastocystis hominis*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2004; 23:509-11.
79. Tungtrongchitr A, Manatsathit S, Kositchaiwat C, Ongrotchanakun J, Munkong N, Chinabutr P, Leelakusolvong S, Chaicumpa W. *Blastocystis hominis* infection in irritable bowel syndrome patients. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2004; 35:705-10.
80. Termmathurapoj S, Leelayoova S, Aimpun P, Thathaisong U, Nimmanon T, Taamasri P, Mungthin M. The usefulness of short-term in vitro cultivation for the detection and molecular study of *Blastocystis hominis* in stool specimens. Parasitol Res. 2004; 93:445-7.
81. Vennila GD, Suresh KG, Khairul AA, Rajah S, Saminathan R, Sivanandan S, Ramakrishnan K. Irregular shedding of *Blastocystis hominis*. Parasitol Res 1999; 85: 162-4.
82. Requena I, Hernández Y, Ramsay M, Salazar C, Devera R. Prevalencia de *Blastocystis hominis* en vendedoras ambulantes de comida del Municipio Caroni, Estado Bolívar, Venezuela. Cad Saude Publica, Rio de Janeiro 2003; 19:1721-7.
83. Boreham RE, Benson S, Stenzel DJ, Boreham PFL. *Blastocystis hominis* infection. Lancet 1996; 348:272-3.
84. Haldane DJM. The role of *Blastocystis hominis* in enteric disease. Nova Scotia Med J 1988; 67:33-4.
85. Babb RR, Wagener S. *Blastocystis hominis* a potential intestinal pathogen. Western J Med 1989; 151: 518-9.
86. Weg AL, Soave R, Jacobson IM. The significance of intestinal *Blastocystis hominis* infection. Gastroenterology 1987; 92:1688.
87. Nigro L, Larocca L, Massarelli L, Patamia I, Minniti S, Palermo F, Cacopardo B. A placebo-controlled treatment trial of *Blastocystis hominis* infection with metronidazole. J Travel Med. 2003;10:128-30.
88. Zaman V, Zaki M. Resistance of *Blastocystis hominis* cysts to metronidazole. Tropical Medicine and International Health 1996; 1:677-8.
89. Haresh K, Suresh K, Khairul Anuar A, Saminathan S. Isolate resistance of *Blastocystis hominis* to metronidazole. Trop Med Int Health 1999; 4:274-7.
90. Dunn LA, Boreham PFL. The in-vitro activity of drugs against *Blastocystis hominis*. J Antimicrob Chemother 1991; 27:507-16.
91. Cohen AN. Ketoconazol and Resistant *Blastocystis hominis* Infection. Ann Intern Med 1985; 103:480-1.
92. Zucherman MJ, Ho H, Hooper L, Anderson B, Polly SM. Frequency of recovery of *Blastocystis hominis* in clinical practice. J Clin Gastroenterol 1990; 12: 525-32.
93. Schwartz E, Houston R. Effect of co-trimoxazole on stool recovery of *Blastocystis hominis*. Lancet 1992; 339: 428-9.
94. Ok UZ, Girginkardesler N, Balcioglu C, Ertan P, Pirildar T, Kilimcioglu A. Effect of trimethoprim- sulfamethaxazole in *Blastocystis hominis* infection. The American Journal of Gastroenterology 1999; 94: 3245-7.
95. Narkewicz MR, Janoff EN, Sokol RJ, Levin MJ. *Blastocystis hominis* gastroenteritis in a hemophiliac with acquired immune deficiency syndrome. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1989; 8:125-8.
96. Amenta M, Dalle ER, Colomba C, Prestileo TS, Di Lorenzo F, Fundaro S, Colomba A, Ferrieri A. Intestinal protozoa in HIV-infected patients: effect of rifaximin in *Cryptosporidium parvum* and *Blastocystis hominis* infections. J Chemother 1999; 11:391-5.
97. Diaz E, Mondragon J, Ramirez E, Bernal R. Epidemiology and control of intestinal parasites with nitazoxanide in children in Mexico. Am J Trop Med Hyg. 2003; 68:384-5.