BLASTOCYSTIS SPP.: ACTUALIZACIÓN EN MORFOLOGÍA, BIOLOGÍA, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO QUIMIOTERAPEÚTICO

Emilia E Barrios[1,2], Génesis Ochoa[1], Angel Castillo[1], Eva Velasquez[3]

[1]Instituto de Biología Molecular de Parásitos (Instituto BioMolP)/ [2]Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional de la Escuela de Bioanálisis-Sede Carabobo.3Departamento Clínico Integral de la Escuela de Bioanálisis-Sede Aragua. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo..

Recibido para publicación el 21 de mayo 2016. Aprobado para publicación el 30 de junio 2016.

RESUMEN:

Blastocystis spp. es un parásito humano perteneciente al Reino Cromista, con un controversial rol patógeno. Los criterios de patogenicidad de Blastocystis spp. son: la identificación de abundantes formas parasitarias con predominio de formas con cuerpo central grandes en las heces del paciente, ausencia de otras infecciones o patologías y desaparición de los síntomas después del tratamiento antiparasitario específico. El parásito es vehiculizado en líquidos o alimentos por contaminación fecal-oral, además de las vías oral-genital u oral-anal. La sintomatología que ocasiona es variable (gastrointestinal, hepatoesplenomegalia, rash cutáneo y cefalea). En pacientes inmunosuprimidos y en algunos inmunocompetentes, la emisión de formas parasitarias aumenta y la sintomatología se agrava. El diagnóstico de Blastocystis spp. se realiza mediante la demostración del parásito en la heces del paciente, no obstante, para determinar el comportamiento patógeno, puede requerirse la cuantificación de la morfología parasitaria, determinación de enzimas claves del metabolismo del parásito, identificar la procedencia epidemiológica del parásito; así como la genotipificación basada en secuencias consenso del ADN del parásito. El tratamiento de pacientes infectados depende en principio de la persistencia de sintomatología junto a los criterios de patogenicidad. El agente quimioterapeútico de primera elección es el metronidazol, no obstante, son frecuentes las reinfecciones y variabilidad en la sensibilidad del parásito al fármaco, en cuyos casos, debe usarse la segunda línea de medicamentos (Nitazoxanida y Trimetropin-Sulfametoxazol).Todos los aspectos controversiales que envuelven a Blastocystis spp. solo pueden ser flanqueados a medida que aspectos de la biología, patogenia, patología e interacciones parásito-hospedador, sean esclarecidos.

Palabras claves: *Blastocystis* spp., biología, metronidazol, nitaxozanida, diagnóstico, patología.

BLASTOCYSTIS SPP.: UPDATE ON MORPHOLOGY, BIOLOGY, DIAGNOSIS AND CHEMOTHERAPEUTIC TREATMENT

SUMMARY

Blastocystis spp. is human parasite from the Chromista kingdom and has a controversial role as a pathogen. The pathogenic criteria of Blastocystis spp. are: the presence of a large numerous of vacuolar forms in the patient's stool, absence of other infections or diseases and symptoms disappear after specific antiparasitic treatment. The parasite is transported in liquids or food by fecal-oral contamination, in addition to oral-genital or oral-anal tract. The symptoms are variable (gastrointestinal, hepatosplenomegaly, skin rash and headache), and in immunosuppressed patients or some inmunocompents, issuing parasitic forms is high and it worsens the symptomatology. Diagnosing Blastocystis spp. is performed by demonstrating the parasite in the patient´s stool, however, to determine the pathogenicity may be required typing and the quantification of parasitic morphologies in feces, determination of the parasite key metabolic enzymes, and identifies the epidemiological origin of the parasite; This can be defined by the genotipification, based on consensus sequences of the parasite´s DNA. Treating the infected patients depends in principle on the persistence of symptoms together with the clinical criteria. The first choice of chemotherapeutic agent is the metronidazole, however, the reinfections are frequents and there´s variability in the parasite sensibility to the drug, in which cases, must use the second line drugs (nitazoxanide and Trimethoprim-sulfamethoxazole). All controversial issues that surround Blastocystis sp. can only be outflanked as long as aspects of its biology, pathogenesis, pathology and parasite-host interactions are investigated.

Keywords: *Blastocystis* spp., biology, diagnosis, Metronidazole, Nitaxozanide, pathology.

Introducción

Blastocystis spp., es un parásito humano perteneciente al Reino Cromista (1,2), agente causal de una infección cosmopolita de prevalencia creciente, descrita en el humano y otros vertebrados (3-5). En Venezuela, presenta una alta prevalencia (6-10) y es encontrado frecuentemente en pacientes con sintomatología (11,12).

A pesar de la alta prevalencia de este parásito, existe

Solicitar copia a: barrios.emilia@gmail.com.

controversia en cuanto al papel patógeno de *Blastocystis* spp., algunos criterios clínicos intentan orientar al respecto, en base a: abundancia de formas parasitarias en muestras fecales, presencia de formas ameboides grandes en las heces del paciente y ausencia de otras causas funcionales, otros parásitos, bacterianas, micóticas y virales y desaparición de los síntomas después del tratamiento con un antiparasitario específico (13).

Blastocystis spp. es vehiculizado a través de agua o bebidas, frutas y hortalizas contaminadas, mediante un mecanismo de transmisión fecal-oral principalmente, y en otros casos por vía oral-genital u oral-anal (14). La sintomatología asociada a la infección es variable: diarrea, dolor abdominal, malestar o molestias intestinales, nauseas, inflamación y flatulencia excesiva, cólico, estreñimiento, mareos, pérdida de peso, prurito perianal, tenesmo, vértigo y anorexia, fiebre, esteatorrea y leucocitos en heces, en casos severos hepatoesplenomegalia (con complicaciones de otra índole), rash cutáneo y colitis, entre otros (15-17).

La mayoría de las infecciones son asintomáticas, sin embargo, el comportamiento oportunista de *Blastocystis* spp. es palpable en pacientes con depresión del sistema inmune, en los cuales la emisión de formas parasitarias a través de las heces es mayor y la sintomatología intestinal y extraintestinal es grave (17-19). No obstante, también en pacientes inmunocompetentes se han encontrado infecciones sintomáticas con emisión de gran número de formas parasitarias asociadas a la sintomatología (12, 20).

El diagnóstico de *Blastocystis* spp. se realiza mediante métodos directos de demostración del parásito en la heces del paciente (16). No obstante, para determinar el comportamiento patógeno, se usan criterios que van desde la cuantificación y tipificación de la morfología parasitaria en la heces (12, 21), la determinación de enzimas claves del metabolismo del parásito (22), hasta identificar la procedencia del parásito, en cuanto a hospedador, lo cual solo puede ser definido mediante la genotipificación, para lo que se amplifica el ADN del parásito, empleando secuencias cebadoras consenso (23,24).

Otro aspecto controversial es la alternativa quimioterapéutica a emplear y en qué momento debe ser aplicado. Esto depende en principio de la persistencia de sintomatología, sin que exista otro agente causal, en conjunto con los criterios clínicos antes mencionados. El agente quimioterapeútico que se emplea con mayor frecuencia, es el metronidazol, no obstante, éste no constituye una terapia efectiva, como lo muestran la frecuente persistencia del parásito luego de ser aplicado el tratamiento con este fármaco (13,25).

Todos los aspectos controversiales que envuelven a *Blastocystis* spp. solo pueden ser flanqueados a medida que aspectos de la biología, patogenia, patología e interacciones parásito-hospedador, sean esclarecidos.

En la presente revisión se evaluó el estatus actual del conocimiento en relación a la biología, patogenia, patología, diagnóstico y tratamiento de *Blastocystis* spp.

El nombre del parásito fue propuesto por Alexieff en 1911, debido a que presentan por encima de la membrana celular, una cubierta mucilaginosa similar a la capsula de los Blastomycetos, además de presentar una división celular similar a un proceso de gemación, lo que que Alexieff, este investigador lo denominó *Blastocystis enterocola*, un año más tarde, Brumpt lo llamó *Blastocystis hominis* (1,2,26,27).

La clasificación inicial de *Blastocystis* varió desde ser considerado hongo, vegetal y un flagelado (26). De hecho fue ubicado entre los protistas, basado en que poseía núcleo, retículo endoplasmático liso y rugoso y organelas similares a mitocondrias, además de que no crecía en medios para hongos, era resistente a anti-fúngicos y era susceptible a drogas antiprotozoarios (metronidazol y emetina (26,27,25).

El análisis molecular de la secuencias de subunidad pequeña del ARN ribosomal (ssrRNA) y el factor de elongación (EF-1), características de la secuencia de genes de *Blastocystis* spp., puso en evidencia que no formaban parte de un grupo monofilético con levaduras, hongos, sarcodina o esporozoarios por lo que debería ser ubicado dentro del grupo de los *Stramenopiles* (28,29,30). Sin embargo, las características de EF-1, sugieren en ese momento que *Blastocystis* spp. está más relacionado con *Entamoeba* spp debido posiblemente a lo pequeño de la muestra empleada en el estudio y características inherentes a la ssrRNA, por tanto, ubicaron a *Blastocystis* en el *Phyllum Sarcomastigophora* (26).

Posteriormente, en 1996, *Blastocystis* fue ubicado de nuevo en el grupo se los Stramenopiles (29). En este grupo es un organismo atípico, puesto que los Stramenopiles se denominan de esa forma porque presentan estructuras piliformes y flagelos, los cuales no están presentes en *Blastocystis* (29). Sin embargo, el análisis filogenético de la subunidad ribosomal pequeña del ARN (30) y otras secuencias génicas del

parásito (31), confirmaron la relación entre *Blastocystis*, flagelados y ciliados comensales provenientes de anfibios y reptiles, entre ellos, los géneros *Proteromonas, Opalina, Protoopalina, Karotomorpha*, y *Cepedea*. Se considera que la ausencia de características típicas de los Straminophiles en *Blastocystis* spp. es producto de una pérdida secundaria de éstas (32).

La fisión binaria simple es el modo de reproducción más ampliamente aceptado para *Blastocystis*. Sin embargo, otros mecanismos se han propuesto, entre ellos, plasmotomia, esquizogonia, endodiogenia (33).

La supervivencia del parásito se encuentra relacionada a su capacidad de responder a cambios en el ambiente que los rodea. Principalmente a cuatro elementos estresantes, como son: cambios térmicos, depleción de nutrientes, cambios osmóticos y oxidativos (34).

Blastocystis spp, desarrolló un mecanismo de disregulación de la óxido nítrico sintetasa (25), lo que inhibe la producción de este radical libre, el cual, induce necrosis y apoptosis en los organismos vivos. Así mismo, es capaz de contrarrestar el stress por calor, sintetizando proteínas del choque térmico, específicamente la Hsp70, esto explica la capacidad de este protozoario de multiplicarse a pesar de la exposición a altas temperaturas, como se ha observado en pacientes que presentan infección cruzada con parásitos maláricos y el virus del dengue (34).

Se ha descrito un gran número de tipos morfológicos de *Blastocystis* spp. (12, 35), algunos de los cuales, son compatibles con artefactos propios de la exposición de estas células a oxigeno (32). Lo realmente certero en cuanto a morfología, es que el género *Blastocystis* agrupa organismos unicelulares que miden entre 5-10 µm de diámetro, multinucleados con varias organelas parecidas a mitocondrias, aparato de Golgi y otras características típicas de células eucariotas (32).

El tipo morfológico de *Blastocystis* spp. predominante en las heces de humanos infectados, son las de cuerpo central, mal denominadas vacuolares (2, 35). Estas parecen relacionarse con la presencia de sintomatología, observándose en algunos casos, esta morfología en una magnitud seis veces mayor a la forma granular, mientras que, en pacientes asintomáticos la relación es aproximadamente dos veces mayor. Esta misma tendencia fue observada al realizar la cuantificación de formas por gramo de heces, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre el número de vacuolares en sintomáticos y asintomáticos (12,20), diferencias que parecen estar relacionadas con la sintomatología.

Las formas de resistencia, están presentes en alrededor de 30% de las muestras positivas (36), sin embargo, estos son raramente reportados debido al desconocimiento de la morfología característica, no obstante, en cultivo, luego de 24 horas, se pueden desarrollar formas vacuolares a partir de quistes, sin la intervención de los ácidos gástricos o enzimas intestinales (36, 37).

Diagnóstico

El diagnóstico del parásito es crítico para desarrollar estudios clínico epidemiológicos, que definan la asociación de *Blastocystis* spp y enfermedad. Sin embargo, la experiencia de técnicas parasitológicas clásicas, como lo son los métodos de demostración de estadios parasitarios al microscopio, previo uso de técnicas de concentración, presentan escasa sensibilidad, debido a la destrucción de los estadios de *Blastocystis* spp. por los procedimientos, que en su mayoría se han diseñado para quistes de protozoarios y huevos de helmintos, los cuales presentan cubiertas rígidas que los protegen de daño durante el procesamiento (36).

Diagnóstico coproparasitológico

Tradicionalmente, el diagnóstico de Blastocystis ssp. se basa en la visualización de la muestra de heces fresca, en solución salina y/o teñida con lugol (16). No obstante, ocasionalmente el diagnóstico puede ser complementado empleando técnicas de tinción como son: tricrómica, hematoxilina y eosina o May-Grunwald-Giemsa (20). La visualización al microscopio requiere experiencia técnica del analista y consume tiempo, puesto que *Blastocystis* puede ser confundido con leucocitos u otros protozoarios como *Dientamoeba fragilis* (36).

Cultivo in vitro

Diversos estudios emplearon métodos de cultivo xénico y axénico (38), a fin de aumentar la sensibilidad de los métodos de demostración del parásito, encontrando alta sensibilidad (36).

El medio de Jones es uno de los medios más utilizados, por su bajo costo y fácil preparación (36). La identificación de las formas de *Blastocystis* spp. cultivados en este medio, con la coloración tricrómica, mostró 100% de sensibilidad y 88% de especificidad (37).

Un estudio comparativo de las formulaciones de nutrientes de cultivo y su capacidad de mantener

la vitalidad del parásito, mostró que los medios RPMI1640 y TB1, solo lograron 3% más de viabilidad en comparación con la solución salina isotónica (SSI), mientras que el mantenimiento de los parásitos vitales, en el medio bifásico de Boeck-Drbohlav (MBD), fue doce veces mayor a la SSI y aproximadamente cinco veces más en comparación con el RPMI1640 y el TB1 (39). Sin embargo, el medio bifásico de Boeck-Drbohlav (MBDM) modificado por Lanuza et al. 1996 (38), resultó ser superior a todos los medios, no sólo fue diez veces mejor que la SSI y ocho veces mejor al RPMI1640 y TB1, sino que casi dos veces superior al MBD clásico, en mantener vitales a los parásitos hasta las 48 horas. No obstante, todos los medios incluidos los medios bifásicos MBD y MBDM disminuyeron con el tiempo, su capacidad de mantener los parásitos viables (39).

Asimismo, se encontró una alta sensibilidad y especificidad diagnóstica con cultivos xénicos realizados a muestras de heces (38), en frascos con una base de agar, peptona y suero fetal bovino, luego de 24 y 48 h de incubación a 37˚C, lo que representa una posibilidad de incorporar este procedimiento al diagnóstico de rutina, para aumentar la sensibilidad del diagnóstico, no obstante, se debe considerar el inconveniente que representa en estos procedimientos, la posibilidad de seleccionar un subtipo en particular por ser más fácilmente cultivable que otros subtipos (36).

Diagnóstico Molecular

Los métodos moleculares son más costosos, pero son sensibles y específicos en comparación con los métodos de visualización al microscopio (36) y necesarios cuando se tiene que definir la especie del parásito o se desee caracterizarlo genotípicamente. En el estudio molecular se emplean secuencias consenso determinadas a partir del análisis de la subunidad pequeña de ADN ribosomal (SSU-rADN) (24), la cual es altamente conservada en cada especie, por tanto, la determinación de genotipos (Subtipos, STs) puede asociarse al origen epidemiológico del parásito y algunos estudios demuestran que puede ayudar a predecir el papel patogénico (25,40) y orientar el tratamiento, en virtud de que se ha reportado diferencias en la susceptibilidad o resistencia variable al tratamiento en subtipos provenientes de humanos (40).

En Colombia, se han identificado los STs 1, 2, 3, 6 y 8, de los cuales, los ST1, ST2 y ST3 fueron aislados de mamíferos domésticos, humanos y ratas (41). Mientras que, los ST6 y ST8 provenían de reptiles y zarigüeyas, pero los ST5 y ST10 característicos del ganado y el ST4 propio de humanos no fueron identificados, en esa población (41). En Brasil, fueron identificados los ST1, ST3 y ST6, y una vez más el ST4 estuvo ausente (42). Por otra parte, en Turquía (43), y en Líbano (44), los genotipos encontrados fueron ST1-ST3, con predominio de este último, encontrándose una asociación positiva entre el ST1 y sintomatología gastrointestinal, en los aislados de individuos libaneses.

Lo anterior demuestra la existencia de diferencias filogeográficas en *Blastocystis* spp. (44). Por tanto, es necesario definir el(los) genotipo(s) del parásito que circulan en una población determinada, puesto que el predominio de uno u otro subtipo varía con la ubicación geográfica y a su vez la capacidad patogénica varía con los STs presentes.

Diagnóstico serológico

Son pocos los estudios que evalúan la respuesta de anticuerpos frente a *Blastocystis* spp., en un estudio (45) donde fueron evaluados pacientes positivos para *Blastocystis* spp. Sin sintomatología, se observó ausencia de respuesta humoral (IgM e IgG); sin embargo, 86% de los pacientes sintomáticos presentaron anticuerpos IgG. Similarmente, nuestro grupo de investigación demostró 0% de positividad en 30 individuos asintomáticos, en contraste con los individuos sintomáticos (n=35) de los cuales 60% (n=21) fueron positivos para IgM y sólo 17% (n=6) para IgG (46).

En secreciones intestinales de ratones infectados oralmente, se demostró la producción de anticuerpos IgA, IgM e IgG anti-*Blastocystis hominis*. La alta respuesta de IgA contra el parásito, sugiere un rol vital de esta inmunoglobulina, en la respuesta inmune contra *Blastocystis*, y como en otros procesos infecciosos, la IgM sérica marcó la respuesta humoral temprana de la Blastocitosis, en los animales de experimentación. Una proteína antigénica de 70,8 kDa, fue reactiva para todos los tipos de anticuerpos, mientras que proteínas de 55 y 57,2 kDa fueron detectadas tanto en secreciones intestinales como en el suero de los ratones, por tanto, el rol de estas proteínas en la estimulación protectora local es indispensable para futuros estudios de patogenicidad, factores de virulencia, desarrollo de estuches de inmunodiagnóstico y opciones de vacunación oral (47).

En contraste, en el estudio previamente citado, se detectó en 100% de los sueros humanos provenientes de sujetos con sintomatología intestinal, una banda de 56 kDa, reconocida solo por 90% de los asintomáticos. Otra banda de interés, encontrada fue de 29 kDa, detectada

por los pacientes con y sin síntomas, no obstante, la banda fue reconocida por 40% de los pacientes sintomáticos y solo 5% de los asintomáticos, por lo que pudiera constituir un buen marcador de patología (47).

Patogenia y patología

La histopatología de pacientes infectados con *Blastocystis* spp. indica que el parásito no puede invadir la mucosa del colon, pero puede alterar la función y permeabilidad de la barrera intestinal (48).

Actualmente, se conoce que el dolor visceral asociado al síndrome de colon irritable (SCI), se debe a alteraciones en la barrera epitelial, ocasionadas por cambios en las uniones estrechas, que traen consigo un incremento en la permeabilidad para-celular (49). En estos pacientes, se observa una alta actividad proteolítica, en comparación con sujetos saludables, lo que sugiere que metalo, cisteína y serina proteasas provenientes de bacterias y de *Blastocystis* spp. juegan un papel importante en el origen del SCI. Puesto que, las proteasas de serina tiene habilidad de marcar el receptor activado por proteasas (PAR-2), induciendo la inflamación y disrupción de las uniones estrechas, características del SCI, esto se debe a que una vez que las uniones estrechas se abren, las proteasas luminales pueden acceder a los ganglios submucosos, activar los PAR-2, en neuronas entéricas y producir hipersensibilidad (48).

La invasión bacteriana en el lumen intestinal sumado a los antígenos del parásito, promueven la activación de la respuesta innata del hospedador, contribuyendo de esta manera, en el establecimiento de una inflamación leve de curso crónico en la submucosa (48). Si la infección es ocasiona por el genotipo ST7 de *Blastocystis*, este además es capaz de secretar enzimas de tipo glicosiltransferasa, que son capaces de inactivar a las proteínas del citoesqueleto, Rho, responsables del mantenimiento de estas uniones, ocasionando la alteración en las uniones estrechas intercelulares (47). En el proceso contribuyen los patógenos entéricos, debido a su capacidad de modular la actividad de las proteasas del hospedador y alterar la homeostasis intestinal (48). Al evaluar la alteración en la barrera epitelial relacionada a la infección por *Blastocystis* spp. genotipo ST7, en la línea celular de colon humano Caco-2, se encontraron evidencias de que ésta era consecuencia de la apoptosis del enterocito, a través de la vía extrínseca, mediada por las caspasas 3 y 9 (49,50).

Por otra parte, los genotipos ST4 y ST7 de Blastocystis ssp. modulan la activación de receptores tipo toll (TLR), empleando ligandos como el zimozan (TLR-2), lipopolisacárido (TLR-4) y flagelina (TLR-5), como fue demostrado en ensayos en una línea celular monocítica humana (THP1-Blue). Esta familia de receptores, son importantes para el reconocimiento de patógenos por células de la respuesta innata (49). El efecto sobre la línea celular puede representar un mecanismo alternativo al descrito previamente, que afecta a la barrera enteroepitelial (47). Lo anterior resulta interesante, en virtud que la pérdida de la integridad de la barrera epitelial intestinal en sujetos infectados por Blastocystis spp. puede proveer de receptores TLRs bajo la superficie apical del epitelio intestinal y un acceso de ligandos provenientes de patógenos luminales. Por ejemplo, TLR-5 es el receptor predominante para la flagelina bacteriana, expresado en el colon basolateral (51), esto implica que la infección con *Blastocystis* spp. puede fungir como un elemento adicional en la inducción de la inflamación intestinal ocasionada por bacterias.

Estudios experimentales mostraron una asociación entre la inoculación de *Blastocystis* spp. provenientes de humanos con sintomatología gastrointestinal y con un predominio de formas vacuolares, en las heces y el desarrollo de signos en ratones inmunosuprimidos con dexametasona (45).

Recientemente, se observó que dentro de un mismo genotipo (el STS 3), el microambiente intestinal y las facilidades que ofrece para que el parásito sobreviva, son las que determinan las diferencias fenotípicas de *Blastocystis* spp (52). Estos investigadores, observaron que los parásitos aislados de pacientes con SCI y sintomatología son de mayor diámetro y presentan alto crecimiento en cultivo y capacidad de aglutinación, en comparación con parásitos provenientes de pacientes asintomáticos, pertenecientes al mismo genotipo. Similarmente, *Blastocystis* spp. fue aislado del tracto gastro-intestinal, hígado y quistes esplénicos en una paciente femenina con dolor agudo en el hipocondrio izquierdo, demostrando posteriormente el análisis molecular que en su mayoría, los parásitos aislados de la lesión correspondían al STS 3 (53).

Tratamiento quimioterapéutico

No existe un protocolo o fármaco de elección para controlar las blastocistosis. Sin embargo, El metronidazol (MTZ), es el medicamento frecuentemente empleado en el tratamiento de la Blastocitosis, presenta una eficacia variable entre 0-100%. Otros antimicrobianos, como laparamomicina,

nitazoxanida, iodoquinol y el trimetropin-sulfametoxazol (TMP-SMX), se han empleado en el tratamiento, dando resultados variables (54,55).

El MTZ se prescribe en dosis de 250 a 750 mg, 3 veces diarias, y 1,5 gr al día por 10 días. Este tratamiento se emplea solo y/o combinado con paramomicina o cotrioxazole (54).

El MTZ puede ser efectivo en ciertos pacientes, pero no erradica el parásito en los pacientes que desarrollan infección severa, debido posiblemente a resistencia desarrollada por algunos subtipos del parásito y a la procedencia geográfica de la persona infectada (54, 56). Paralelamente con el tratamiento con MTZ parece desarrollarse el aumento del potencial reproductivo del parásito, traducido en el hecho de que las formas granulares parecen liberar gránulos reproductivos responsables del aumento del número de parásitos observados en cultivo, luego del tratamiento. Mientras que la resistencia de las formas quísticas a la toxicidad del fármaco, podrían determinar la eficiencia variable del fármaco (57). Así como que cambios en la morfología y aumento en el número de organelas similares a mitocondrias, en Blastocystis spp. proveniente de pacientes sintomáticos (58).

Pese a la eficacia variable, se ha demostrado en los parásitos susceptibles al MTZ, que este induce apoptosis en *Blastocystis* spp. (55).

La nitazoxanida, un 5-nitro tiazol, constituye un antiparasitario de amplio espectro, con aparente actividad contra Blastocystis spp., empleado a dosis de 500 mg por día, durante tres días. Sin embargo, su efectividad varía con el genotipo del parásito, pudiendo ser más susceptible que el subtipo 7 que el subtipo 4, a este medicamento (57).

El TMP-SMX, se emplea como alternativa terapéutica si la sintomatología persiste luego de administrar el MTZ o en mujeres embarazadas, no obstante, el TMP-SMX puede reducir de forma considerable el número de parásitos, pero no se logra la erradicación definitiva de éstos (57).

En conclusión, desde el punto de vista diagnóstico es importante el reporte de la morfología y el número de *Blastocystis* spp. encontrados en el paciente en un momento determinado como un primer criterio de patogenicidad, debido a la ampliamente demostrada relación entre presencia de gran número de formas vacuolares grandes y sintomatología (2, 12,20,22,36,37,39).

Las proteínas antigénicas de *Blastocystis* spp. reconocidas por sueros humanos y de animales infectados, podrían emplearse como marcadores de patología pero también como marcadores diagnóstico.

Por otra parte, el diagnóstico molecular es importante, dada la amplia ubicación del parásito en distintos hospedadores (reptiles, mamíferos, aves), la estrecha relación entre algunos genotipos y patología, así como, con la variabilidad en la efectividad del tratamiento con metronidazol y el uso de medicamentos considerados segunda línea de elección como la nitazoxanida o el TMP-SMX con el genotipo de Blastocystis spp. Por lo que el diagnóstico molecular puede traducirse en un tratamiento oportuno.

Finalmente, en vista que se reporta a nivel mundial una amplia variabilidad en el predominio y presencia de genotipos y su implicación en patología, es importante identificar los subtipos de *Blastocystis* spp. que se encuentran circulando en Venezuela, con especial énfasis en aquellos que son identificados en pacientes con sintomatología gastrointestinal o extraintestinal, a fin de caracterizar la virulencia, susceptibilidad y resistencia a los fármacos de primera y segunda línea de elección.

Referencias

1. Derelle R, López-García P, Tímpano H, Moreira D. A phylogenomic framework to study the diversity and evolution of stramenopiles (=heterokonts). Mol Biol Evol 2016;33(11):2890-2898.
2. Devera R. Blastocystis spp.: 20 años después. Kasmera 2015;43(2):94-96.
3. Suresh K, Ng GC, Ramachandran NP, Ho LC, Yap EH, Singh M. In vitro encystment and experimental infections ofBlastocystis hominis. Parasitol Res 1993;79(6):456-460.
4. Moe K, Singh M, Howe J, Ho L, Tan S N G, Chen X, Yap E. Observations on the ultrastructure and viability of the cystic stage of Blastocystis hominis from human feces. Parasitol Res 1996;82(5):439-444.
5. Barahona L, Maguiña C, Náquira C, Terashima I, Tello R. Blastocystosis humana: Estudio prospectivo, sintomatología y factores epidemiológicos asociados. Rev Gastroenterol Perú 2003;23(1):29-35.
6. Devera R, Angulo V, Amaro E, Finali M, Franceschi G, Blanco Y, et al. Parásitos intestinales en habitantes de una comunidad rural del Estado Bolívar, Venezuela. Rev Biomed 2006;17(4):259-268.
7. Panunzio A, Fuentes B, Villaroel F, Pirela E, Avi A, Molero-Zambrano T, et al. Prevalencia y epidemiología de Blastocystis sp. en dos comunidades del Municipio Maracaibo Estado Zulia. Kasmera 2014;42(1):9-21.
8. Calchi M, Rivero Z, Bracho A, Villalobos R, Acurero E, Maldonado A, et al. Prevalencia de Blastocystis sp. y otros protozoarios comensales en individuos de Santa Rosa de Agua, Maracaibo, Estado Zulia. Rev Soc Venezol Microbiol 2013;33:66-71.

9. Devera R, Blanco Y, Amaya I. Prevalencia de parásitos intestinales en escolares de Ciudad Bolívar, Venezuela: comparación entre dos períodos. Kasmera 2015;43(2):122-129.
10. Devera R, Cordero A, Uzcategui Y, Blanco Y, Amaya I, Requena I, et al. Blastocistosis en niños y adolescentes de una comunidad indígena del Estado Bolívar, Venezuela. Saber 2016; 28(1). Disponible en: http://www.ojs.udo.edu.ve/index.php/saber/article/view/2099. [Consultado en: febrero 2016]
11. Barahona L, Maguiña C, Náquira C, Terashima A, Tello R. Sintomatología y factores epidemiológicos asociados al parasitismo por Blastocystis hominis. Parasitol Latinoam 2002;57:96-102.
12. Hernández A, Barrios E, Sánchez L, Araque W, Delgado V. Tipos morfológicos, número de parásitos por campo y carga parasitaria de Blastocystis sp proveniente de pacientes sintomáticos y asintomáticos. Salus 2012;16(3):15-20.
13. Devera R, Velásquez V, Vásquez M, Azacón B, Jiménez M. Blastocystis hominis: criterios de patogenidad. Saber 2000;12(2):23-28.
14. Muñoz V, Frade C. Blastocystis hominis: parásito enigmático. Cuad Hosp Clin Caracas 2005; 50(1). Disponible en: file:///C:/Users/Usuario/Documents/Emilia/conferencias%202015/charla%20blastocystis/carpeta%20de%20envio%20del%20articulo/nuevos%20papers/sintomatologia.pdf. [Consultado en: enero 2016]
15. Méndez M, Do Muiño M, Sánchez G, López B, Toboada L. Blastocystis hominis un gran desconocido. Rev Pediatr Aten Primaria 2015;17:e39-344.
16. Tan KS. New insights on classification, identification, and clinical relevance of Blastocystis spp.Clin Microbiol Rev 2008;21(4):639-665.
17. Mohandas SR, Sud A, Malla N. Prevalence of intestinal parasitic pathogens in HIV-seropositive individuals in Northern India. Jpn J Infect Dis 2002; 55(3):83-84.
18. Alger J. Blastocystis hominis: Pathogen or Commensal. Lancet 2007;337(8740):521-522.
19. Socarras SL. Presencia de Blastocystis hominis como agente causal de enfermedades gatrointestinales en la comuna 7 (Gaira) del Distrito de Santa Marta. Duazary 2005;2(1):36-40.
20. Sánchez L, Barrios EE, Sardiña A, Araque W, Delgado V. Infección experimental de aislados humanos de Blastocystis sp. en ratones inmunosuprimidos con dexametasona. Kasmera 2012:40(1):67-77.
21. Amaya A, Trejos J, Morales E. Blastocystis spp.: revisión literaria de un parásito intestinal altamente prevalente. Rev Salud UIS 2015;47(2). Disponible en: http://revistas.uis.edu.co/index.php/revistasaluduis/rt/printerFriendly/4831/5285. [Consultado en: enero 2016]
22. Barrios E, Hernández A, Peña N, Villanueva J, Pinto V, Delgado V, et al. Blastocystis hominis: patrones de isoenzimas en aislados humanos. Salus 2009;13(1):39-42.
23. Noël C, Dufernez F, Gerbod D, Edgcomb V, Delgado-Viscogliosi P, Ho L-C, 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):348-355.
24. Stensvold CR, Suresh GK, Tan KS, Thompson RA, Traub RJ, Viscogliosi E, et a. Terminology for Blastoclystis subtypes–a consensus. Trends Parasitol 2007;23(3):93-96.
25. Mirza H, Wu Z, Kidwai F, Tan KS. A metronidazole-resistant isolate of Blastocystis spp. is susceptible to nitric oxide and downregulates intestinal epithelial inducible nitric oxide synthase by a novel parasite survival mechanism. Infect Immun 2011;79(12):5019-5026.
26. Zierdt C, Rude WS, Bull BS. Protozoan characteristic of Blastocystis hominis. Am J Clin Path 1967;48:495-501.
27. Zierdt C. Blastocystis hominis--past and future. Clin Microbiol Rev 1991;4(1):61-79.
28. Arisue N, Hashimoto T, Yoshikawa H. Sequence heterogeneity of the small subunit ribosomal RNA genes among Blastocystis isolates. Parasitology 2003;126(1):1-9.
29. Silbeman J, Sogin M, Leipe D, Clark C. Human parasite fines taxonomic home. Nature 1996;380:398. Disponible en: Doi:10.1038/380398a0. [Consultado en: enero 2016]
30. Arisue N, Hashimoto T, Yoshikawa H, Nakamura Y, Nakamura G, Nakamura F, et al. Phylogenetic position of Blastocystis hominis and of stramenopiles inferred from multiple molecular sequence data. J Eukaryot Microbiol 2002;49(1):42-53.
31. Klimer V, Gentekaki E, Roger A, Elia M. A Large Number of Nuclear Genes in the Human Parasite Blastocystis Require mRNA Polyadenylation to Create Functional Termination Codons. Genome Biol Evol 2014;6(8):1956-1961.
32. Mehlhorn H, Tan KSW, Yoshikawa H. Blastocystis: Pathogen or Passenger?: An Evaluation of 101 Years of Research. Parasitol Res Monographs 2012: Springer Berlin Heidelberg. Disponible en: http://www.springer.com/us/book/9783642327377. [Consultado en: enero 2016]
33. Zapata I, Rojas-Cruz C. Una actualización sobre Blastocystis sp. Rev Gastrohnup 2012;14(3):94-100.
34. Gaythri T, Suresh K, Subha B, Kalyani R. Identification and Characterisation of Heat Shock Protein 70 in Thermal Stressed Blastocystis sp. PLoS ONE 2014;9. Disponible en: http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0095608 [Consultado en: enero 2016]
35. Zierdt C, Donnolley C, Muller J, Constantopoulos G. Biochemical and ultrastructural study of Blastocystis hominis. J Clinical Microbiol 1988;26(5):965-970.
36. Stensvold CR. Laboratory diagnosis of Blastocystis spp. Trop Parasitol 2015;5(1):3-5 Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4326991/. [Consultado en: enero 2016]
37. Rene BA, Stensvold CR, Badsberg JH, Nielsen HV. Subtype analysis of Blastocystis isolates from Blastocystis cyst excreting patients. Amer J Trop Med Hyg 2009;80(4):588-592.
38. Lanuza MD, Carbajal JA, Borrás R. Description of an improved method for Blastocystis hominis culture and axenization. Parasitol Res 1997;83:60-63.
39. Barrios E, Castillo S, Goitia E, Ojeda O, Araque W, Delgado

V. Mantenimiento y transporte del Blastocystis sp. en condiciones de vitalidad. Salus 2013;17(Suppl):29-38.

40. Roberts T, Stark D, Harkness J, Ellis J. Update on the pathogenic potential and treatment options for Blastocystis sp. Gut Pathog 2014;6:17. Disponible en: http://www.gutpathogens.com/content/6/1/17. [Consultado en: enero 2016]
41. Ramírez JD, Sánchez LV, Bautista DC, Corredor AF, Flórez AC, Stensvold CR. Blastocystis subtypes detected in humans and animals from Colombia. Infect Gen Evol 2014;22:223-228.
42. David EB, Guimarães S, De Oliveira AP, Goulart TC, Nogueira GN, Moraes AR, et al. Molecular characterization of intestinal protozoa in two poor communities in the State of São Paulo, Brazil. Parasit Vectors 2015;8(1):103. Disponible en: https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-015-0714-8 [Consultado en: febrero 2016]
43. Ertug S, Malatyali E, Ertabaklar H, Çaliskan SÖ, Bozdogan B. Aydın İlinde Elde Edilen Blastocystis İzolatlarının Alt Tip Dağılımı ve Klinik Semptomların Değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul; 2015;49(1):98-104.
44. El Safadi D, Meloni D, Poirier P, Osman M, Cian A, Gaayeb L, et al. Molecular epidemiology of Blastocystis in Lebanon and correlation between subtype 1 and gastrointestinal symptoms. Am J Trop Med Hyg 2013;88(6):1203-1206.
45. Mahmoud M, Saleh W. Secretory and humoral antibody responses to Blastocystis hominis in symptomatic and asymptomatic human infections. J Egypt Soc Parasitol 2003;33(1):13-30.
46. Barrios EE, Guevara D, Ojeda O, Pinto V, Araque W, Delgado V, Barrios M G. Morfología y respuesta de anticuerpos IgM e IgG anti-Blastocystis sp. en pacientes con síntomas gastrointestinales. Salus 2013;17(3):19-26.
47. Abou M, Elwakil H, El Deeb H, Khalifa K, Abd H. The potential use of 29 kDa protein as a marker of pathogenicity and diagnosis of symptomatic infections with Blastocystis hominis. Parasitol Res 2011;108(5):1139-1146.
48. Poirier P, Wawrzyniak I, Vivarès CP, Delbac F, El Alaoui H. New insights into Blastocystis spp.: a potential link with irritable bowel syndrome. PLoS Pathog 2012;8(3): Disponible en: http://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1002545 [Consultado en: enero 2016].
49. Teo J, MacAry PA, Tan K. Pleiotropic effects of Blastocystis spp. subtypes 4 and 7 on ligand-specific toll-like receptor signaling and NF-κB activation in a human monocyte cell line. PloS one 2014;9(2). Disponible en: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0089036 [Consultado en: enero 2016]
50. Wu Z, Mirza H, Teo JD, Tan KS. Strain-Dependent Induction of Human Enterocyte Apoptosis by Blastocystis Disrupts Epithelial Barrier and ZO-1 Organization in a Caspase 3-and 9-Dependent Manner. Biomed Res Internat 2014. Disponible en: Doi: http://dx.doi.org/10.1155/2014/209163. [Consultado en: enero 2016]
51. Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, Hawn TR, Eugene CY, Goodlett DR, et al. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. Nature 2001;410(6832):1099-1103.
52. Ragavan ND, Govind SK, Chye TT, Mahadeva S. Phenotypic variation in Blastocystis sp. ST3. Parasit Vectors 2014;7:404. Diosponible en: https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-7-404 [Consultado en: febrero 2016]
53. Santos H, Sodré F, De Macedo H. Blastocystis sp. in splenic cysts: causative agent or accidental association? A unique case report. Parasit Vectors 2014;7(1):207. Disponible en: https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-7-207 [Consultado en: enero 2016]
54. Nigro L, Larocca L, Massarelli L, Patamia I, Minniti S, Palermo F, et al. A placebo-Controlled Treatment Trial of Blastocystis hominis Infection with Metronidazole. J Travel Med 2003;10(2):128-130.
55. Moghaddam DD, Ghadirian E, Azami M. Blastocystis hominis and the evaluation of efficacy of metronidazole and trimethoprim/sulfamethoxazole. Parasitol Res 2005;96(4):273-275.
56. Dunn L, Tan K, Vanelle P, Juspin T, Crozet M, Terme T, et al. Development of metronidazole-resistant lines of Blastocystis sp. Parasitol Res 2012;111(1):441-450.
57. Sekar U, Shanthi M. Blastocystis: Consensus of treatment and controversies. Trop Parasitol 2013;3(1):35-39.
58. Raman K, Kumar K, Chye TT. Increase number of mitochondrion-like organelle in symptomatic Blastocystissubtype 3 due to metronidazole treatment. Parasitol Res 2016;115(1):391–396.