



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

***BLASTOCYSTIS SPP.* ASPECTOS
GENERALES Y RELACIÓN CON LA
MICROBIOTA HUMANA**

Autor: Aida Luque Ortiz

Fecha: 22 de Mayo 2019

Tutor: Carmen Cuesta Bandera

CONTENIDO

| | |
|--|----|
| RESUMEN..... | 3 |
| ABSTRACT..... | 3 |
| INTRODUCCIÓN | 3 |
| OBJETIVOS..... | 6 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 6 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 6 |
| 1. Inmunopatogenia..... | 6 |
| 2. Presentación clínica..... | 7 |
| 3. Co-infección..... | 7 |
| 4. Relación subtipo-patogenia..... | 7 |
| 5. Detección y pruebas diagnósticas | 8 |
| 6. Epidemiología y profilaxis | 10 |
| 7. Tratamiento | 10 |
| 8. Papel de Blastocystis spp como comensal o patógeno y su relación con la microbiota humana | 12 |
| CONCLUSIONES | 14 |
| APORTACIONES | 15 |
| NUEVAS LINEAS DE INVESTIGACIÓN | 16 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 16 |

RESUMEN

Blastocystis spp es un parásito protista de alta prevalencia a nivel mundial, es localizado a nivel intestinal y se detecta en las muestras fecales durante el diagnóstico clínico de laboratorio. La taxonomía de *Blastocystis spp* se encuentra bajo controversia, al igual que su lugar formando parte de la microbiota intestinal o su patogenicidad, responsable del cuadro clínico denominado blastocitosis. Se conocen 17 subtipos de *Blastocystis spp*, 9 de los cuales colonizan al hombre además de otros hospedadores, esto, por tanto, desvela su potencial zoonótico e indica una transmisión no sólo vía oral-fecal a través de agua y alimentos contaminados sino también por contacto directo con animales infectados. Los fármacos a usar en el tratamiento de primera línea son Metronidazol y Trimetoprim-sulfametoxazol.

Palabras clave: *Blastocystis spp*, parásito intestinal, blastocitosis, subtipo, prevención, diagnóstico, tratamiento.

ABSTRACT

Blastocystis spp. Is an protista parasite of high prevalence worldwide. It is localized at the intestinal level and is detected in fecal samples during clinical laboratory diagnosis. The taxonomy of *Blastocystis spp* is under controversy, as is its place as part of the intestinal microbiota or its pathogenicity, responsible for the clinical picture called blastocytosis. There are 17 known subtypes of *Blastocystis spp*, 9 of which colonize humans in addition to other hosts, this, therefore, reveals its zoonotic potential and indicates a transmission not only via oral-fecal through contaminated water and food but also by direct contact with infected animals. The drugs to be used in the first-line treatment are Metronidazole and Trimethoprim-sulfamethoxazole.

Keywords: *Blastocystis spp*, intestinal parasite, blastocytosis, subtype, prevention, diagnosis, treatment.

INTRODUCCIÓN

Blastocystis spp es un microorganismo eucariota, unicelular, anaeróbico de distribución cosmopolita; es frecuente localizarlo en el tracto intestinal tanto humano como de animales motivo por el que se cambió *Blastocystis hominis* por su denominación actual, *Blastocystis spp*^{1,2}.

La taxonomía de *Blastocystis spp* es controvertida y variante, actualmente se encuentra dentro de un grupo de seres vivos heterogéneo junto con diatomeas, algas pardas, crisófilos, etc. Este grupo es estramenófilas (infra-reino *Heterokonta*¹), pertenecientes al reino *Chromista* y subreino *Chromobiota*. Esta clasificación, es avalada por un estudio a nivel molecular de genes de las pequeñas subunidades del ARN-ribosomal de *Blastocystis spp*, el cual identifica diecisiete subtipos² (STs), de los cuales ocho colonizan al hombre y otros hospedadores (ST1-ST8), el noveno solo infecta al hombre (ST9), y los restantes son exclusivos de otros hospedadores (ST10-ST17). Los diferentes subtipos no tienen una distribución y prevalencia homogénea, pues los subtipos del ST1, ST2, ST3 y ST4 son los más comunes, causando más del 90% de los casos registrados en Europa².

Blastocystis spp es un microorganismo que posee las estructuras celulares comunes y además estructuras tipo-mitocondria de doble membrana con ADN circular, la cual se considera que está implicada en el metabolismo energético, aunque su función no está concluida todavía.

Blastocystis spp presenta un tamaño variable y es polimórfico^{3,4}, diferenciando entre cuatro formas morfológicas diferentes:

- Forma vacuolar (a): encontrada con mayor frecuencia en las heces frescas de pacientes infectados y caracterizada por presentar una gran vacuola central con sustancias de reserva o componentes para la multiplicación celular; alrededor de ella se encuentran el resto de orgánulos presentando entre uno o cuatro núcleos celulares y una mitocondria en forma de roseta. La forma vacuolar mide hasta 200 μm de diámetro.
- Forma granular (b): se desarrolla desde la forma vacuolar por la inducción de determinados estímulos como la presencia de antibióticos o concentración de suero en medios de cultivo y se caracteriza morfológicamente por presentar diversas granulaciones tanto dentro de vacuola central como en el citoplasma, éstos presentan diferentes funciones (metabólicas, reproductivas o lipídicas). La forma granular mide entre 6 y 8 μm y mayormente se encuentra en cultivos in vitro.
- Forma ameboide (c): es una fase intermedia entre la forma vacuolar y la forma quística que presenta entre uno y dos núcleos, y una o varias vacuolas celulares. Se caracteriza por su forma irregular y la capacidad de emitir pseudópodos encargados de la fagocitosis de restos bacterianos y celulares almacenados en el interior citoplasmático. Se localiza en heces diarreicas y cultivos in vitro con un tamaño aproximado menor de 10 μm .
- Forma quística (d): existen dos tipos de quistes, los quistes fecales (o de pared gruesa) que son la forma transmisible, y los quistes de pared fina que son la forma responsable de la autoinfección. Son encontrados principalmente en las muestras de heces frescas, con forma esférica y protegidos con una pared multilaminar, cuyo interior presenta de uno a cuatro núcleos y varias vacuolas con las sustancias de reserva, que principalmente son glucógeno y lípidos. La forma quística mide entre 3 y 5 μm .

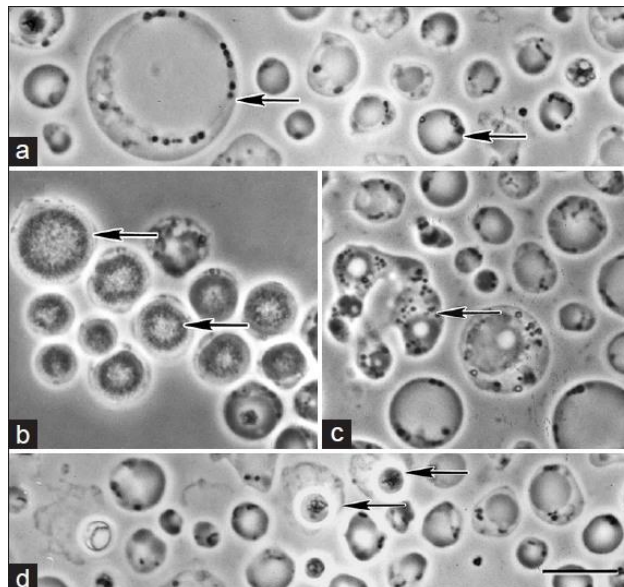


Imagen 1 [Ref 4]

Algunos estudios contemplan las formas avacuolar y multivacuolar, siendo posiblemente formas intermedias encontradas con frecuencia en muestras de heces frescas. Las formas y tamaños variables se relacionan con las diferentes cepas o los distintos estados de enquistamiento-desenquistamiento; suelen presentar entre uno o dos núcleos y un tamaño de aproximadamente 8µm.

El ciclo biológico^{5,7} de *Blastocystis spp* sigue bajo investigación. Se conoce que los quistes de pared gruesa son la forma infectante del parásito que persisten un mes a temperatura ambiente y hasta dos meses a 4°C, sin embargo, son sensibles a los desinfectantes habituales y a las temperaturas extremas lo que proporciona claves sencillas para la prevención. La transmisión es directa, vía oral-fecal (manos sucias) o indirecta, por la ingestión de los quistes en agua o alimentos contaminados, o por contacto directo con animales infectados⁶.

Los quistes al ser ingeridos pierden la pared externa por acción de los jugos gástricos, bajan por el tracto gastrointestinal hasta el intestino grueso donde se produce el desenquistamiento y la liberación de la forma vacuolar que por fisión binaria (reproducción asexual) da paso a las formas multivacuolares y ameboides encargadas de formar posteriormente por esquizogonia los pre-quistes, que tendrán distintas funciones según de la forma morfológica que provengan. Las formas multivacuolares, producen quistes de pared fina, encargados de la autoinfección y las formas ameboides, producen quistes de pared gruesa encargados de la transmisión al ser eliminados con las heces y cerrando, así, el ciclo⁷.

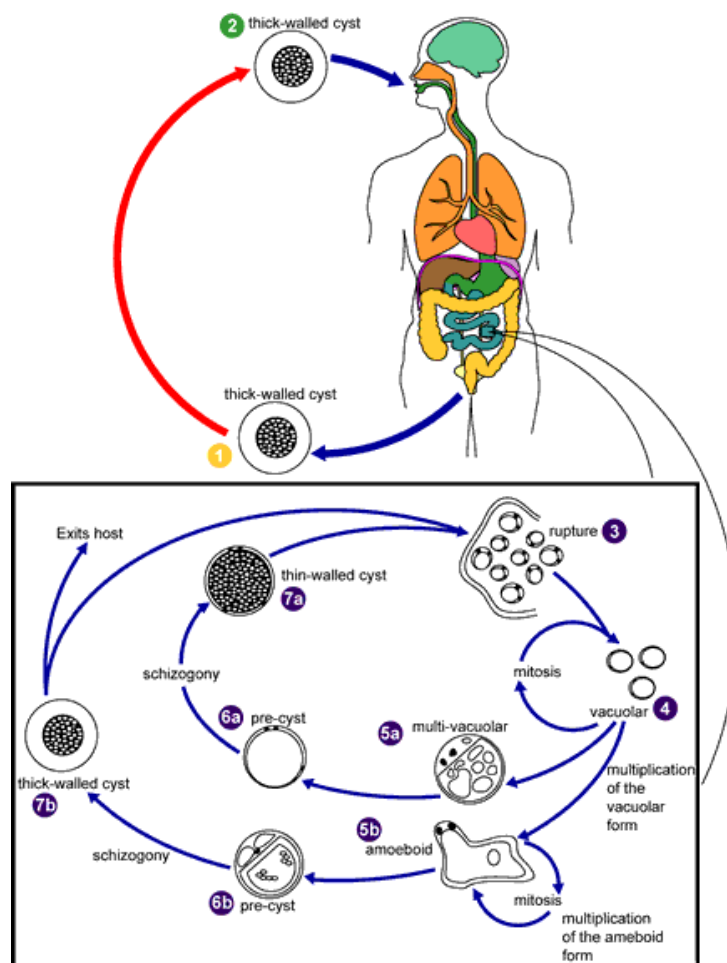


Imagen 2 [Ref 7]

OBJETIVOS

Mediante una revisión bibliográfica, se pretende estudiar los aspectos más característicos de *Blastocystis spp*, tales como la patogenicidad, sintomatología, diagnóstico, prevención y tratamiento de la blastocitosis, incluyendo el papel del patógeno en la microbiota humana.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el desarrollo de este Trabajo de Fin de Grado se realiza una búsqueda bibliográfica en las bases de datos de páginas web oficiales como Pubmed, Google Academic, Scielo, CDC (Centers of Disease Control and Prevention), MedLine y NCBI (National Center for Biotechnology Information). Descartando aquellas referencias no obtenidas de fuentes oficiales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. *Inmunopatogenia*

La patogenicidad⁸ de *Blastocystis spp* continúa siendo un tema controvertido, ya que diferentes estudios apoyan el papel como comensal del microorganismo pues no encontraron diferencias entre la población que presentaba sintomatología de la población asintomática, además de que, en muchos casos, se produce una resolución⁹ de los síntomas sin necesidad de administrar un tratamiento específico¹⁰. Sin embargo, no se descarta el papel patógeno y la circunstancia en que se comporta como tal. Así, se realiza la asociación entre la patogenicidad¹¹ y la concentración parasitaria, siendo necesario un número de microorganismos por campo superior a cinco (utilizando un objetivo de 100x de inmersión); y de la misma manera, se asocia la patogenicidad con el subtipo genético, mediante la secuenciación del ARN ribosómico. Este análisis revela la heterogeneidad existente y que la relación entre el subtipo (ST) y la patogenicidad no debe de ser el único factor involucrado en la virulencia del microorganismo. Ayudando en esta tarea se encuentran las propias características del protozoo como su superficie irregular, que favorece la adherencia de bacterias capaces de estimular la respuesta inmune en el hospedador, o la forma morfológica que presente como la forma ameboide que estimula la secreción de proteasas¹² y produce el desarrollo de los síntomas específicos en el paciente, principalmente gastrointestinales.

La forma ameboide es la que presenta una membrana irregular capaz de adherirse al epitelio intestinal. La adhesión provoca la liberación de cisteína-proteasas que provocan la alteración y posterior apoptosis de las células del epitelio intestinal. El desequilibrio homeostático, se traduce en un incremento de la permeabilidad y la estimulación de la síntesis de interleuquina 8 (IL-8) a través de un mecanismo dependiente del factor nuclear kB por el huésped, además de la presentación de los síntomas característicos de la blastocitosis como la pérdida de líquidos y la reacción inflamatoria intestinal.

En cultivos de heces de pacientes sintomáticos, con el aumento de las formas ameboides se observa una mayor actividad proteasa; en cambio, en los pacientes asintomáticos las formas morfológicas más frecuentes encontradas son la vacuolar y granular, consideradas formas no patogénicas. Como resultado se observa cierta relación causal a la aparición de los síntomas, con el paso del protozoo a la forma ameboide. Por otro lado, se considera que, gracias a su

capacidad proteolítica, el protozoo evade el sistema inmunitario al degradar la inmunoglobulina A humana¹³.

2. *Presentación clínica*

La infección por *Blastocystis spp* es la blastocitosis¹⁴ que cursa de manera asintomática, en la mayoría de casos. La infección sintomática cursa con síntomas intestinales¹⁵ inespecíficos como dolor abdominal¹⁶ tipo cólico, diarrea acuosa aguda sin deshidratación, náuseas, flatulencias, anorexia, pérdida del apetito, distensión abdominal, tenesmo, prurito perianal, Síndrome del intestino irritable¹⁷, sangrado rectal, anemia ferropénica, reacción alérgica en la piel (urticaria), angioedema crónico, prurito palmo-plantar, eosinofilia, hepatoesplenomegalia, leucocitosis fecal, ansiedad, cefalea, estreñimiento, fatiga y en algunos casos fiebre¹⁸.

En muchos casos, el cuadro es autolimitado: el hospedador erradica al parásito o permanece como portador asintomático. En cambio, en pacientes inmunocomprometidos¹⁹ (como en el Síndrome de inmunodeficiencia adquirida, cáncer, celíacos, etc.) estos síntomas tienen tendencia a la cronicidad.

El Síndrome del intestino irritable es un trastorno funcional digestivo de gran impacto sanitario y socioeconómico; siendo su causa desconocida pero multifactorial, asociada a la alteración de la microflora intestinal, junto a factores genéticos, ambientales y a la dieta. Cursa con dolor abdominal, malestar, distensión abdominal, y cambios en la frecuencia y consistencia de las evacuaciones. La relación hallada con *Blastocystis spp* no está esclarecida, considerando la posibilidad de que la alteración intestinal favorezca la colonización por el protozoo pues realiza una inmunomodulación sobre el huésped. Se asocia principalmente a los subtipos ST1 y ST3, sin embargo, podría no ser el único agente causal.

La asociación con el cáncer²⁰ deriva de la capacidad de *Blastocystis spp* de disminuir la respuesta inmunitaria en el hospedador para asegurarse de su propia supervivencia. Al reducir la respuesta inmune, aumenta la capacidad proliferativa de las células tumorales y se induce la angiogénesis.

3. *Co-infección*

Cuando un paciente presenta síntomas intestinales atribuibles a una blastocitosis se debe corroborar que el único patógeno responsable de los síntomas es *Blastocystis spp*, pues es frecuente encontrar este microorganismo asociado a otros agentes etiológicos como bacterias, virus, hongos, además de otros parásitos intestinales. La co-infección dificultará el tratamiento.

Los principales microorganismos parásitos a los que se encuentra asociado *Blastocystis spp* son *Giardia intestinalis*, *Endolimax nana* y *Entamoeba histolytica/dispar*. Estos organismos comparten vía de transmisión, además de causar cuadros clínicos similares.

4. *Relación subtipo-patogenia*

Los subtipos hallados de *Blastocystis spp* no son todos exclusivos del ser humano. El estudio genético buscaba encontrar una relación significativa entre el subtipo ST y la patogenicidad, sin embargo, la relación hallada fue con la virulencia. A través del estudio genómico se busca

conocer la variabilidad dentro de cada subtipo y profundizar en materias como la distribución geográfica y la especificidad del hospedador.

La diferencia entre los subtipos llega a ser mínima, de manera que para considerar un nuevo subtipo tiene que presentar al menos un 5% de variabilidad en la secuencia de ADN.

Los subtipos²¹ conocidos son del ST1 al ST19, siendo entre ellos el ST1, ST3 y ST4, lo más frecuentes en Europa; estos además presentan como reservorios a los animales lo que provoca que su diseminación se encuentre facilitada.

El ST1 es el subtipo más vinculado a Sudamérica, África y climas tropicales, principalmente dirigido hacia zonas rurales en donde la población se encuentra en contacto directo con los animales, lo que destaca su carácter zoonótico. A nivel mundial presenta una amplia distribución, de manera que ocupa un segundo puesto tras ST3 como el más prevalente. El ST2 se localiza principalmente en Asia y Europa, además de ser el más prevalente en Irlanda.

El ST3 es el más frecuente²² a nivel mundial y europeo y se encuentra principalmente en el ser humano; mientras que el ST4 presenta como reservorio el roedor y se sitúa como el segundo subtipo más prevalente a nivel europeo, sin embargo, el ST4, en algunos países se sitúa como el subtipo principal, como ocurre en España y Alemania. De la misma forma, no se descarta que acabe sustituyendo al ST3 como el más prevalente pues parece ser que su extensión abarcará un nivel mundial.

El subtipo ST5 se encuentra principalmente en Bolivia, y el ST6 es más frecuente en Egipto²³, Nepal, Asia, Japón y Malasia.

Actualmente, clasificar a *Blastocystis spp* por subtipos no aporta las respuestas necesarias para su relación con la patogenia, pero está claro que la variabilidad tiene su causa en el diferente origen geográfico.

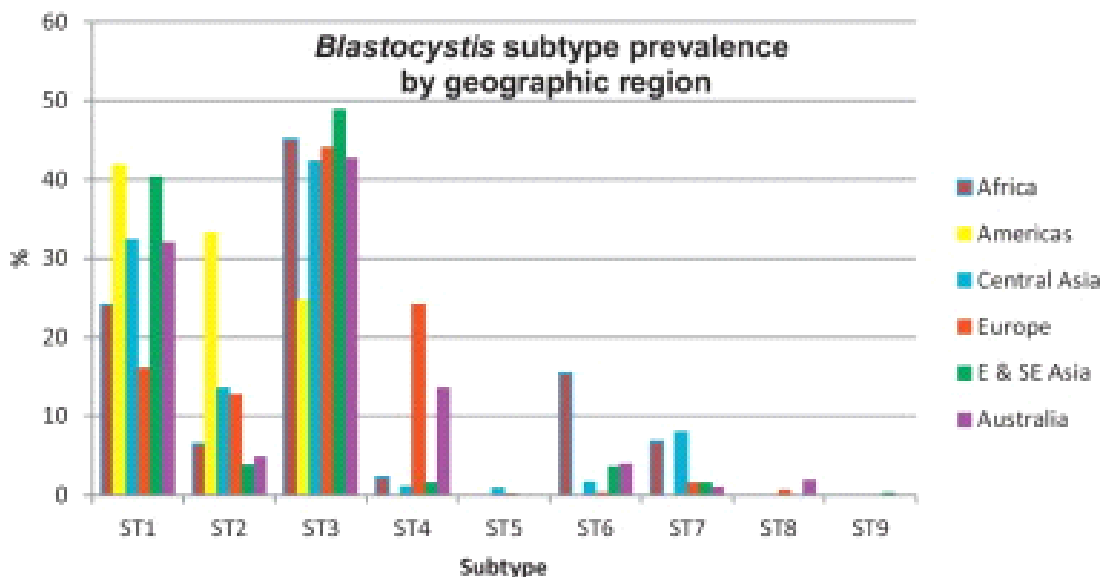


Imagen 3 [Ref 24]

5. Detección y pruebas diagnósticas

Para la orientación del tratamiento, el diagnóstico clínico-epidemiológico es fundamental²⁵, debido a que los signos y síntomas característicos de la infección no son específicos, siendo

necesario realizar un diagnóstico diferencial para descartar otras enfermedades de etiología similar y determinar su origen: bacteriano, viral o parasitario.

La principal complicación que presenta el diagnóstico es la variedad morfológica de *Blastocystis spp*, pues el personal de laboratorio deberá identificarlas y diferenciar de otros parásitos intestinales que presenten una sintomatología común.

El estudio de heces será realizado sobre los pacientes sintomáticos con persistencia de los síntomas; habrá que tener en cuenta que la emisión de los quistes en *Blastocystis spp* se produce de manera discontinua por lo que habrá que analizar más de una muestra para evitar falsos negativos. La muestra de elección será de heces frescas, siendo tres muestras recogidas en días no consecutivos. La muestra hasta el análisis deberá permanecer conservada bajo refrigeración.

La técnica diagnóstica de elección es el examen macroscópico directo²⁶ de las heces del paciente. Consiste en coger una muestra a la que se le añade una gota de solución salina²⁷ (SS) al 85% y una gota de lugol (tinción), y se entremezcla con un aplicador de madera. Permite observar las diferentes formas del parásito incluso en movimiento, además de resaltar estructuras como el núcleo celular; no obstante, principalmente se buscarán formas vacuolares o quísticas. La observación microscópica²⁸ se realizará con el objetivo de 10X y 40X. El examen directo es la técnica diagnóstica más utilizada por su sencillez, amplio espectro y bajo coste. Se deberá reportar el número de microorganismo por campo y las formas morfológicas halladas, de manera que facilite la elección del tratamiento más adecuado.

Se pueden utilizar otro tipo de tinciones como la tinción tricrómica²⁹ que tiñe la vacuola central de un color azul o rojo permitiendo una mejor identificación del protozoo; o la tinción de Gram, utilizada principalmente para la identificación de quistes pues el cristal violeta no tiñe intensamente los de *Blastocystis spp* y permite una mayor diferenciación con los de *Cyclospora cayetanensis*.

Otro estudio posible se realiza utilizando la técnica de concentración Formol-Acetato de Etilo (FEA) que consiste en la centrifugación de la muestra en presencia de acetato de etilo mediante agitación por vórtex y posterior observación del sedimento. Para ello, se toma una muestra de aproximadamente 2 gramos diluida en 10 mL de formalina al 10%, se homogeniza, filtra y se añade 3 mL de acetato de etilo más 0,1 mL de tritón, se lleva a centrifugación a 2000 rpm durante 10 minutos; posteriormente, se descarta el sobrenadante y se observara el sedimento al microscopio hasta agotamiento.

Para el diagnóstico de *Blastocystis spp*, también, se pueden realizar cultivos, sin embargo, el tiempo empleado en el diagnóstico es mucho mayor que con un examen directo. Los medios más utilizados son el medio Jones (medio monofásico, el cual carece de antibióticos y es el más sensible para *Blastocystis spp*), Boeck-Drbohlav modificado (MBDM) y el medio Pavlola. Otra variable, es usar el método de vertido en placa para hacer crecer colonias. La forma más frecuente encontrada es la forma vacuolar, mientras que en las muestras de heces son los quistes los que se encuentran con mayor facilidad.

En cuanto al diagnóstico inmunológico, las técnicas principalmente utilizadas son ELISA y la inmunofluorescencia indirecta (IFA), siendo ésta última la más específica para detectar formas vacuolares, granulares y ameboides, pues se basa en la detección de inmunoglobulinas de tipo IgA e IgE específicas para *Blastocystis spp*.

Por último, se puede acudir a las técnicas moleculares de diagnóstico, basadas en la reacción sobre la cadena de la polimerasa³⁰ (PCR) y posterior secuenciación del producto obtenido (gen SSUrRNA). Permite conocer el subtipo genético de *Blastocystis spp* causante de la infección y

tiene como ventaja su gran especificidad, sensibilidad y rapidez, sin embargo, como inconveniente presenta su elevado coste, la necesidad de un personal muy cualificado y su escasa disponibilidad en algunos laboratorios.

Otras técnicas menos empleadas serían el aspirado duodenal, la endoscopia y la biopsia.

6. Epidemiología y profilaxis

Blastocystis spp es el protozoo más frecuentemente aislado en las muestras de heces. Existen mil millones de personas colonizadas, mundialmente distribuidas. Se encuentra con una prevalencia estimada en la población general del 30-50% en países en vías de desarrollo (zonas tropicales y subtropicales) y del 1,5-10% en países desarrollados; siendo también, más habitual en la población infantil, llegando a un 100% de infección en países como Senegal.

El parásito se transmite por contacto directo con otros humanos o animales³¹, o por contacto indirecto, a través de alimentos y agua contaminada. El mecanismo de infección es vía oral-fecal, y el reservorio no sólo incluye al hombre, sino también a una gran variedad de especies animales (aves de corral, ganado, animales de cría, silvestres, exóticos...) que eliminan quistes con la deposición de las heces.

Los principales factores de riesgo para adquirir el parásito son las condiciones socio-económicas, el compromiso inmunitario, los viajes, el contacto directo con animales, la calidad de agua de bebida (agua sin realizar ningún tipo de tratamiento o un tratamiento insuficiente), la exposición a alimentos contaminados, la higiene personal deficiente y las características del individuo (estrés o alteración emocional). Pacientes con VIH-SIDA o trasplantados tienen mayor posibilidad de presentar infecciones de tipo sintomáticas a causa de que su sistema inmune se encuentra comprometido.

Las medidas de control deben incluir buena higiene personal, adecuadas instalaciones sanitarias y educación sanitaria de la población para prevenir la contaminación fecal del ambiente y la ingestión de agua o alimentos contaminados. Entre las medidas higiénico-sanitarias principales encontramos el lavado correcto de manos (con jabón o desinfectante con alcohol), la terapia psicológica para el manejo del estrés y las emociones, el consumo de agua clorada, filtrada o hervida, evitar el consumo de alimentos contaminados (principalmente consumir alimento cocinados, lavados o pelados), evitar el contacto con animales, el diagnóstico rápido y eficiente de los pacientes y el tratamiento adecuado de las excretas (evitar la diseminación de quistes). Cuando se realice un viaje a zonas endémicas hay que tener en cuenta las medidas profilácticas recomendadas como no consumir cubos de hielo, no beber agua de la ducha o usar agua embotellada para lavarse los dientes, también se puede recurrir a purificar el agua con una solución saturada de yodo (12,5mL/L) o con halozona (5 tabletas/L) durante 30 minutos.

El desconocimiento de estas medidas o la despreocupación del individuo conlleva la diseminación del parásito.

7. Tratamiento

El tratamiento es un tema bajo controversia pues *Blastocystis spp* no presenta un claro papel como patógeno. El tratamiento estará indicado para pacientes con síntomas crónicos, pues en muchos casos la infección es autoresolutiva. Para la correcta elección del tratamiento, debe realizarse un diagnóstico diferencial, de manera que se descarte la presencia de otros microorganismos como *Giardia intestinalis*, *Giardia lamblia*, *Endolimax nana*,

Cryptosporidium sp. y *Entamoeba histolytica/dispar*, presentes algunos en casos de co-infección.

El objetivo del tratamiento es lograr la curación clínica, disminuyendo el número de formas evolutivas por campo, el número de recidivas y las visitas médicas a causa de la infección. Se busca contribuir a la mejora de la calidad de vida del paciente, reduciendo la sintomatología gastrointestinal, mejorar el pronóstico de vida en el caso de los pacientes inmunocomprometidos, la erradicación parasitaria y la disminución de la transmisión; para ello, el cumplimiento adecuado de las medidas higiénico-sanitarias es fundamental para evitar la autoinfección o reinfección del individuo.

El fármaco utilizado como primera elección es el Metronidazol^{32,33}. El Metronidazol es un antibiótico, antiparasitario de la familia de los 5-nitroimidazoles cuyo mecanismo de acción se basa en la interacción con el ADN celular produciendo la pérdida de la estructura helicoidal, la rotura de la cadena y la resultante inhibición en la síntesis de ácidos nucleicos, lo que conduce a la muerte celular. Otra variante imidazólica utilizada es el tinidazol o el secnidazol³⁴. El Metronidazol está indicado para infecciones por *Trichomonas vaginalis* (en caso de uretritis y vaginitis, tanto sintomáticas como asintomáticas), *Giardia lamblia* (lambliaosis), bacterias anaerobias y *Entamoeba histolytica* (en amebiasis intestinal aguda o abscesos hepáticos junto con la realización de un drenaje o aspiración de pus posterior). La posología recomendada es de 250-750 mg/8 horas o 1500 mg/24 horas por vía oral en adultos durante 7-10 días y de 15 mg/kg de peso/8 horas (máximo 250mg/dosis) por vía oral en niños durante 5-7 días. Tras la administración del tratamiento siempre es recomendable la realización de un examen directo para comprobar la eliminación de las formas parasitarias.

El tratamiento de segunda línea es con Trimetoprim-sulfametoxazol. Es un fármaco antibacteriano que proviene de la asociación de una sulfonamida y la trimetoprima. El Sulfametoxazol inhibe de manera competitiva la utilización de ácido para-aminobenzoico (PABA) en la ruta sintética del hidrofolato celular produciendo la bacteriostasis; la Trimetoprima inhibe de manera reversible la dihidrofolato reductasa bacteriana (DHFR), enzima activa que convierte el dihidrofolato en tetrahidrofolato, por lo que su acción es bactericida. De esta manera, la asociación Trimetoprim-sulfametoxazol bloquea dos etapas consecutivas en la ruta biosintética de purinas y, por lo tanto, de ácidos nucleicos necesarios para la supervivencia celular. La posología³⁵ recomendada es de 6 mg/kg TMP/30 mg/kg SMX o 320 mg TMP/1600 mg SMX una vez al día durante 7 días o 160 mg TMP/800 mg SMX dos veces al día durante 7 días en adultos; en niños no se ha evaluado la seguridad del fármaco.

Según el tipo de infección que presente el paciente se utilizará monoterapia o una terapia combinada como es en el caso de los subtipos más resistentes, pacientes inmunocomprometidos³⁶, co-infecciones o escasez en la mejora de la calidad de vida. Las asociaciones recomendadas son de tipo 5-nitroimidazol con Furazolidona y Nitazoxanida.

La Nitazoxanida es un antiparasitario, antiprotozoario y un agente contra la amebiasis. Es un derivado sintético de la siliacilamida e inhibidor de la enzima piruvato ferridoxin oxidorreductasa (PFOR), de manera que interrumpe el metabolismo energético anaeróbico parasitario al cesar la transferencia de electrones. En helmintos, inhibe la polimerización de la tubulina. Es un fármaco de gran eficacia contra la enteritis y la diarrea tanto la en la población infantil como en adultos; su posología recomendada es de 500 mg/12 horas por vía oral durante 3 días en adultos y en niños se divide por rangos de edad: de 1 a 3 años, una dosis de 100 mg/12 horas, y de 4 a 11 años, una dosis de 200 mg/12 horas, por vía oral durante 3 días. La tasa de erradicación parasitaria que presenta es mayor que con el Metronidazol.

Otros agentes efectivos son la Paromomicina, Iodoquinol, Ornidazol y Ketokonazol. El fracaso terapéutico se asocia con algunos subtipos y con una concentración deficiente de fármaco en el lugar de acción; por ello, la elección del fármaco se basa en dos requisitos: no ser degradados por la flora intestinal y que se produzca una adecuada concentración a nivel del colón. Otra alternativa que existente es un probiótico de *Saccharomyces boulardii* que demostró dar la mejoría terapéutica a los pacientes a los que fue administrado.

Esto deja entrever que existe un amplio abanico de posibilidades en relación al tratamiento y la necesidad de establecer un criterio que avale la aplicación de un determinado fármaco en el caso individual de la infección por *Blastocystis spp*.

8. Papel de *Blastocystis spp* como comensal o patógeno y su relación con la microbiota humana

La diferencia para *Blastocystis spp* como un microorganismo patógeno o uno comensal no está esclarecida, siendo un objeto de investigación actual³⁷.

La clasificación de *Blastocystis spp* como participante de la microbiota intestinal humana o causante de diversas patologías se esclarece en los siguientes dos aspectos diferenciados:

1. Aspectos que hacen considerar a *Blastocystis spp* como un microorganismo patogénico:

- 1.1. La duración de la infección o colonización es un factor relevante para declarar cuando un organismo eucariota actúa como patógeno pues los microorganismos que causan enfermedades de tipología aguda, provocan una respuesta inmunitaria en el huésped que tiene como objetivo la eliminación del parásito y la inducción de la formación de una memoria inmunitaria a largo plazo. Esto ocurre con microorganismos como *Giardia intestinalis* o *Cryptosporidium spp*, y son considerados verdaderos parásitos³⁸.
- 1.2. La localización intestinal es el otro factor relevante que puede llevar a considerar a un organismo como patógeno pues el organismo patógeno es capaz de invadir el tejido intestinal del huésped, realizar una diseminación hacia el resto de tejidos, y causar diversas lesiones, abscesos y reacciones de tipo inflamatorio.

De esta idea también sale la relación con el concepto “parásito oportunista”. La infección oportunista es causada por agentes que se comportan como patógenos al encontrar un sistema inmune debilitado como ocurre en el caso de los pacientes con tratamiento crónico de corticoides, post-trasplantes, infectados por VIH/SIDA o cáncer. Esta situación inmune suscitaría a *Blastocystis spp* a su carácter patogénico, pudiendo ser comensal en circunstancias contrarias^{20,39}.

- 1.3. La asociación de *Blastocystis spp* con otras bacterias o virus es una alarma potencial pues la bacteria o virus que infecta a *Blastocystis spp* puede provocar una modulación en el parásito capaz de aumentar la gravedad de la infección³⁹: por ejemplo, como es en el caso de la *Leishmania*, un parásito intracelular obligado que se puede encontrar infectado por un virus de ARN, de manera que juntos son responsables de mayores porcentajes de metastización en los casos diagnosticados, ya que ayuda a la persistencia del parásito gracias a su acción facilitadora en el reconocimiento del receptor 3 similar a Toll (TLR3⁴⁰).

1.4. La variabilidad genética y la presencia o ausencia de factores de virulencia específicos son los principales ejemplos que suscitan dudas sobre la condición patógena de *Blastocystis spp.* Se apoya el papel de que las cisteína-proteasas son responsables de la virulencia del protozoo, pues son enzimas que participan activamente en el proceso invasivo al huésped ya que estimulan la síntesis de la citoquina proinflamatoria IL-8, provocan la degradación de la inmunoglobulina humana A (IgA) y alteran la resistencia de la barrera epitelial provocando, de este modo, el incremento de la permeabilidad vascular. No obstante, este aspecto debe apoyarse en estudios futuros que analicen comparativamente el genotipo de *Blastocystis spp.* de manera que se identifique la virulencia de las cisteína-proteasas⁴¹.

2. Aspectos que hacen considerar a *Blastocystis spp.* como un microorganismo perteneciente a la microbiota humana:

2.1. En contraposición a lo expuesto anteriormente en el punto 1.1 y 1.2, los microorganismos que forman parte de la microbiota comensal, establecen asociaciones estables de por vida con el huésped, de manera que colonizan el intestino y permanecen confinados³⁸ a dicha localización ejerciendo una acción beneficiosa aceptada por el sistema inmunológico. Uno de los principales beneficios que aporta la microbiota comensal es ayudar a la descomposición de la celulosa, lo que evidencia su compromiso en diversos procesos metabólicos del hospedador. Otro aspecto clave en investigación es la modulación que puede ejercer sobre el sistema inmune el microorganismo de manera que los pacientes sanos que presentan un microbiota de alta diversidad tienen una menor incidencia de enfermedades autoinmunes e inflamatorias.

2.2. En relación a la evolución de la homeostasis inmunológica del huésped, se observa una relación significativa entre las infecciones parasitarias y las enfermedades autoinmunes, de manera que se concluye que la falta de exposición infantil a este tipo de microorganismos y/o parásitos aumenta la probabilidad de sufrir enfermedades autoinmunes en personas predispuestas⁴¹ en la vida adulta. Esto es consecuencia de la no exposición previa al antígeno que provoca un desequilibrio en la respuesta inmunitaria cuando finalmente entran en contacto con el huésped, de forma que encuentra facilitado el posterior desarrollo de una enfermedad inflamatoria crónica. El establecimiento previo de la diversidad microbiana hubiese producido una modulación positiva que quizás mantendría una respuesta inmunológica normalizada contra este tipo de enfermedades autoinmunes.

2.3. *Blastocystis spp.*, junto con *Entamoeba coli*, *Escherichia coli*, *Dientamoeba* y *Enteromonas hominis*, entra en el grupo de microorganismos que se desconoce con certeza su verdadero papel. Es debido a su alta prevalencia en individuos asintomáticos que se sugiera que no todos los hospedadores humanos son susceptibles a la infección ni, en caso de *Blastocystis spp.*, todos los genotipos son patógenos.

En analogía con el caso de *Entamoeba spp*, solo algunas especies causan enfermedades mientras que la mayoría de individuos que albergan *Entamoeba spp*³⁹ están colonizados por especies aparentemente no patogénicas. De este modo, se puede abordar la idea de que la mayoría de *Blastocystis spp* podría ser inofensivo y la virulencia podría limitarse a un subconjunto de variantes genéticas.

2.4. Un microorganismo puede actuar como parásito o comensal en función del contexto³⁸ del huésped y del ecosistema intestinal pues, la naturaleza de la relación huésped-eucariota cambiará en función del estado nutricional o la salud del huésped teniendo un efecto diferente en pacientes sanos con acceso permanente a alimentos ricos en vitaminas y oligoelementos (común en países desarrollados) que en pacientes desnutridos o inmunocomprometidos. Por lo que, la diversidad del ecosistema intestinal variaría en función del origen geográfico, edad, dieta, tabaco, estrés, infecciones gastrointestinales, y por la toma de probióticos y antibióticos, y será causa directa de la condición que presentará como patogénico o comensal el protozoo.

2.5. Anteriormente se expone que los beneficios potenciales del eucarioma derivan de una mayor diversidad general y de la capacidad de los microorganismos de modular el sistema inmunitario del huésped, de manera que *Blastocystis spp* puede ser un marcador³⁹ necesario para la homeostasis intestinal ya que su presencia es común en individuos sanos ayudando a mantener una capa de moco saludable en el intestino, pues ya sea directamente o a través de interacciones con otras bacterias beneficiosas o con el sistema inmunológico, *Blastocystis spp* provoca la secreción de la citoquina IL-22 que estimula la producción de moco³⁸. Esta citoquina alivia síntomas de la colitis mejorando la salud intestinal, y contradice el papel de *Blastocystis spp* como causante de la enfermedad inflamatoria intestinal, el Síndrome del intestino irritable, la urticaria y la blastocitosis.

De esta manera, el papel patógeno o comensal de *Blastocystis spp* continúa siendo una incógnita.

CONCLUSIONES

El papel patógeno de *Blastocystis spp* y la circunstancia en que se comporta como tal, parece ser el resultado de la asociación entre la patogenicidad y la concentración parasitaria, y la patogenicidad con el subtipo genético. Estos factores quedan relacionados con las propias características del protozoo como su superficie irregular o la forma morfológica que presente, destacando la forma ameboide pues es la forma que principalmente provoca la adhesión que induce la liberación de cisteína-proteasas que causan la alteración de las células del epitelio intestinal y se traduce en un incremento de la permeabilidad y la estimulación de la secreción de interleucina 8 responsable de la presentación de los síntomas característicos de la blastocitosis como la pérdida de líquidos y la reacción inflamatoria intestinal.

1. La blastocitosis es la infección causada por *Blastocystis spp* que cursa de manera asintomática, en la mayoría de casos. La infección sintomática cursa con síntomas intestinales inespecíficos, causando normalmente un cuadro clínico autolimitado; sin embargo, en pacientes inmunocomprometidos estos síntomas pueden tener tendencia a la cronicidad. La blastocitosis, también, actúa como un factor de riesgo asociado a

diferentes patologías como en el caso del Síndrome del intestino irritable y el cáncer pues en ambos casos realiza una inmunomodulación sobre el huésped.

2. *Blastocystis spp* es el protozoo más frecuentemente aislado, se encuentra con una prevalencia estimada del 30-50% en países en vías de desarrollo, predominando en zonas tropicales y subtropicales. El parásito se trasmite vía oral-fecal por contacto directo con humanos o animales, o por contacto indirecto, a través de alimentos y agua contaminada.

3. El diagnóstico clínico-epidemiológico es fundamental para la elección del tratamiento, pues los signos y síntomas de la infección no son específicos provocando la necesidad de realizar un diagnóstico diferencial para descartar otros posibles agentes infecciosos y la co-infección.

El estudio de heces será realizado sobre los pacientes sintomáticos con persistencia de los síntomas. El examen directo es la técnica diagnóstica más utilizada por su sencillez, amplio espectro y bajo coste, además se pueden utilizar diferentes técnicas de tinción como la tinción tricrómica o la tinción de Gram. Otras posibles técnicas de diagnóstico a utilizar son la técnica de concentración Formol-Acetato de Etilo (FEA), la realización de cultivos, las técnicas inmunológicas como ELISA o la inmunofluorescencia indirecta (IFA) y las técnicas moleculares que permite conocer el subtipo genético de *Blastocystis spp* causante de la infección.

4. El tratamiento estará indicado para pacientes con síntomas crónicos y debe pautarse en base al diagnóstico diferencial. El fármaco utilizado como primera elección es el Metronidazol, seguidamente se encuentran como alternativas terapéuticas el Trimetropim-sulfametoxazol, Nitazoxanida, Paromomicina, Iodoquinol, Ornidazol y Ketokonazol.

El fracaso terapéutico se asocia con algunos subtipos parasitarios y con una concentración deficiente de fármaco en el lugar de acción; por ello, la elección del fármaco adecuado pasa a ser una cuestión primordial, además del cumplimiento adecuado de las medidas higiénico-sanitarias para evitar la autoinfección o reinfección del individuo.

5. El papel patógeno o comensal de *Blastocystis spp* continúa siendo una incógnita pues permanece la incertidumbre sobre el verdadero papel *Blastocystis spp* en la microbiota humana. Pudiendo diferenciar dos aspectos:

5.1. Las características que provocan que el microorganismo sea considerado como patógeno son la tipología y duración de la infección, la respuesta inmunitaria que provoca en el huésped que tiene como objetivo la eliminación del parásito y la localización intestinal típica capaz de invadir el tejido intestinal y realizar una diseminación hacia el resto de tejidos. Además, hay que tener en cuenta que la variabilidad genética y la presencia o ausencia de factores de virulencia específicos son los principales ejemplos que suscitan dudas sobre la condición patógena de *Blastocystis spp*.

5.2. Las características que provocan que el microorganismo sea considerado como comensal se basan en la acción beneficiosa que realiza el microorganismo a nivel metabólico en su localización intestinal, en la presencia que tiene sobre individuos asintomáticos, lo que se suscita que no todos los hospedadores humanos son

susceptibles a la infección ni todos los genotipos existentes de *Blastocystis spp* son patogénicos pudiendo reducirse a un subconjunto de variantes genéticas y, por último, en la modulación positiva que realiza sobre el sistema inmunológico, hecho que se asocia a una menor prevalencia en el desarrollo de enfermedades autoinmunes y de carácter inflamatorio como el Síndrome del intestino irritable, la urticaria y la blastocitosis.

APORTACIONES

Los temas expuestos tienen el objetivo de recopilar y profundizar sobre el conocimiento actual existente del protozoo para entender su actuación como patógeno. Sin embargo, la no resolución final del enigma requiere la realización de futuras investigaciones.

NUEVAS LINEAS DE INVESTIGACIÓN

A causa de la incertidumbre sobre el verdadero papel de *Blastocystis spp* es conveniente estandarizar el cultivo in vitro, desarrollar nuevas técnicas de diagnóstico molecular y la identificación de los factores de virulencia. Además de definir el modelo animal más adecuado para realizar estudios que permitan reconocer los factores de riesgo y la relación entre la presentación clínica y la infección causada por *Blastocystis spp*.

Estos aspectos son algunos de los desafíos que se deberán superar para avanzar en este debate.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SW Tan, K. (2008). *New Insights on Classification, Identification, and Clinical Relevance of Blastocystis spp*. [Internet] NCBI.gov/PMC. [Consultado el 3 de febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2570156/>
2. Scanlan, P. (2012). *Blastocystis: past pitfalls and future perspectives*. [Internet] Clinicalkey. [Consultado el 11 de febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.clinicalkey.com/#!/content/playContent/1-s2.0-S1471492212000840?returnurl=https%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492212000840%3Fshowall%3Dtrue&referrer=https%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2F>
3. Zierdt, C. (1991). *Blastocystis hominis-past and future*. [Internet] NCBI.gov. [Consultado el 6 de febrero del 2019]. Disponible en: [http://Zierdt CH1. Blastocystis hominis--past and future. Clin Microbiol Rev. 1991;4\(1\):61-79.](http://Zierdt CH1. Blastocystis hominis--past and future. Clin Microbiol Rev. 1991;4(1):61-79.)
4. Parija, S. and Jeremiah, S. (2013). *Blastocystis: Taxonomy, biology and virulence*. [Internet] Tropical Parasitology. [Consultado el 5 de marzo del 2019]. Disponible en: <http://www.tropicalparasitology.org/article.asp?issn=2229-5070;year=2013;volume=3;issue=1;spage=17;epage=25;aulast=Parija>
5. Maravilla, P., López Escamilla, E. and Martínez Hernández, F. (2017). *Blastocistosis*. [Internet] Revistaciencia.amc.edu.mx. [Consultado el 1 de marzo del 2019]. Disponible

en:

https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/68_1/PDF/blastocistosis.pdf

6. Nagel, R., Cuttell, L., Stensvold, C., Mills, P., Bielefeldt-Ohmann, H. and Traub, R. (2012). *Blastocystis subtypes in symptomatic and asymptomatic family members and pets and response to therapy*. [Internet] Internal Medicine Journal. [Consultado el 8 de marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22032439>
7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2017). *Blastocystis hominis*. [Internet] DPDx-Blastocystis hominis. [Consultado el 16 de mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/blastocystis/index.html>
8. Chacón N, Durán C, de la Parte M. Blastocystis sp. en humanos: actualización y experiencia clínico terapéutica [Internet]. Scholar Google. 2017 [Consultado el 14 de marzo del 2019]. Disponible en: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/12/876668/01-chacon-n-5-14.pdf>
9. Méndez Busteloa M, do Muiño Jogab M, Garabal Sáncheza S, Ben Lópezc E, Llovo Taboada J. Blastocystis hominis, un gran desconocido [Internet]. Scielo. 2015 [Consultado el 7 de marzo del 2019]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322015000100009
10. Fonte Galindo, D., Fong González, D., Méndez Sutil, D. and Moreira Perdomo, D. (2014). *Patogenicidad de Blastocystis sp. Evidencias y mecanismos*. [Internet] Revista Cubana de Medicina Tropical. [Consultado el 17 de marzo del 2019]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v66n3/mtr01314.pdf>
11. Roberts, T., Stark, D., Harkness, J. and Ellis, J. (2014). *Update on the pathogenic potential and treatment options for Blastocystis sp.* [Internet] BMC. [Consultado el 15 de febrero del 2019]. Disponible en: <https://gutpathogens.biomedcentral.com/articles/10.1186/1757-4749-6-17>
12. Tan, K., Singh, M. and Yap, E. (2002). *Recent advances in Blastocystis hominis research: hot spots in terra incognita*. [Internet] ScienceDirect. [Consultado el 15 de marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002075190200005X>
13. Puthia, M., Vaithilingam, A., Lu, J. and Tan, K. (2005). *Degradation of human secretory immunoglobulin A by Blastocystis*. - PubMed - NCBI. [Internet] Ncbi.nlm.nih.gov. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16151742> [Consultado el 14 de marzo del 2019].
14. Salinas J, Vildozola Gonzales H. Infección por Blastocystis [Internet]. Scielo.org.pe. 2007 [Consultado el 4 de marzo del 2019]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292007000300007
15. Mayo Clinic (2019). *Blastocystis hominis*. [Internet] Mayo Clinic. [Consultado el 11 de marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/blastocystis-hominis-infection/symptoms-causes/syc-20351205>
16. Boorom K, Smith H, Nimri L, Viscogliosi E, Spanakos G, Parkar U et al. Oh my aching gut: irritable bowel syndrome, Blastocystis, and asymptomatic infection [Internet].

- NCBI/PMC. 2008 [Consultado el 5 de marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2627840/>
17. Yakoob J, J., Jafri, W., Islam, M. and Asim Beg, M. (2004). *In vitro susceptibility of Blastocystis hominis isolated from patients with irritable bowel syndrome.* - PubMed - NCBI. [Internet] Ncbi.nlm.nih.gov. [Consultado el 14 de marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15250669>
 18. Uribarren Berrueta D. Texto normal Texto normal BLASTOCYSTOSIS o BLASTOCISTOSIS [Internet]. Universidad Nacional Autónoma de México. 2017 [Consultado el 18 de marzo del 2019]. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/blastocistosis.html>
 19. Chandramathi, S., Suresh, K., Sivanandam, S. and Kuppusamy, U. (2014). *Stress exacerbates infectivity and pathogenicity of Blastocystis hominis: in vitro and in vivo evidences.* [Internet] PubMed.gov. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24788756> [Consultado el 12 de febrero del 2019].
 20. Taylor-Orozco, V., López-Fajardo, A., Muñoz-Marroquín, I., Hurtado-Benítez, M. and Ríos-Ramírez, K. (2016). *Blastocystis sp: EVIDENCIAS DE SU ROL PATÓGENO.* [Internet] Scielo.org. [Consultado el 30 de abril del 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v15n2/v15n2a07.pdf>
 21. Stensvold, C., Suresh, G., Tan, K., Thompson, R., Traub, R., Viscogliosi, E., Yoshikawa, H. and Clark, C. (2007). *Terminology for Blastocystis subtypes – a consensus.* [Internet] Clinicalkey.com. [Consultado el 14 de febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.clinicalkey.com#!/content/playContent/1-s2.0-S1471492207000050?returnurl=https%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492207000050%3Fshowall%3Dtrue&referrer=https%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2F>
 22. Vassalos, C., MD, MScPH, PhD, Spanakos, G., Vassalou, E., Pharm, Papadopoulou, C., DVM and Vakalis, N. (2010). *Differences in Clinical Significance and Morphologic Features of Blastocystis sp Subtype 3.* [Internet] Oxford Academy. [Consultado el 4 de marzo del 2019]. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajcp/article/133/2/251/1760991>
 23. Basualdo, J., Córdoba, M., De Luca, M., Ciarmela, M., Pezzani, B., Grenovero, M. and Minvielle, M. (2007). *Intestinal parasitoses and environmental factors in a rural population of Argentina, 2002-2003.* [Internet] Scopus preview. [Consultado el 15 de marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-34548621508&origin=inward&txGid=236f51322a14df527bd06583db282291>
 24. Alfellani, M., Stensvold, C., Vidal-Lapiedra, A., Uche Onuoha, E., Fagbenro-Beyiokud, A. and Clark, C. (2012). *Variable geographic distribution of Blastocystis subtypes and its potential implications.* [Internet] Elsevier. [Consultado el 14 de marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X12003993#fig0005>

25. Stensvold, C. and Clark, C. (2016). *Current status of Blastocystis: A personal view*. [Internet] Elsevier.com. [Consultado el 16 de febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.clinicalkey.com/#!/content/playContent/1-s2.0-S1383576916301544?returnurl=https:%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1383576916301544%3Fshowall%3Dtrue&referrer=https:%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2F>
26. F. del Coco V, B. Molina N, A. Basualdo J, A. Córdoba M. Blastocystis spp.: avances, controversias y desafíos futuros [Internet]. ScienceDirect. 2016 [Consultado el 12 de febrero del 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754116300876>
27. Muñoz, D. and Frade, D. (2005). *BLASTOCYSTIS HOMINIS: PARÁSITO ENIGMÁTICO*. [Internet] Revistas Bolivianas. [Consultado el 8 de marzo del 2019]. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S1652-67762005000100011&script=sci_arttext&lng=pt
28. Chávez Navarro D. Diagnóstico de protozoarios intestinales frecuentes en niños [Internet]. Scielo. 2008 [Consultado el 4 de marzo del 2019]. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-06752008000300008
29. Gallegos L, González A, López-Urbina T, Gonzales- Gustavson E, Gómez-Puerta L, Arroyo G. Comparación de la eficacia de tres medios de cultivo in vitro para el desarrollo de Blastocystis spp [Internet]. 2013 [Consultado el 29 de marzo del 2019]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172013000400010
30. Stensvold, C. (2013). *Blastocystis: Genetic diversity and molecular methods for diagnosis and epidemiology*. [Internet] Tropical Parasitology. [Consultado el 15 de marzo del 2019]. Disponible en: <http://www.tropicalparasitology.org/article.asp?issn=2229-5070;year=2013;volume=3;issue=1;spage=26;epage=34;aulast=Stensvold>
31. Vassalos, C., Papadopoulou, C. and Vakalis, N. (2008). *Blastocystosis: an emerging or re-emerging potential zoonosis?* [Internet] Google Academic. [Consultado el 15 de marzo del 2019]. Disponible en: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/32793748/679.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1557920494&Signature=2z9ZZYPYb8pxT1BtgPmsXWKGsOO%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DBlastocystosis_an_emerging_or_re-emergin.pdf
32. Mirza H, Wu Z, Kidwai F, Tan K. 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 [Internet]. NCBI/PMC. 2011 [Consultado el 14 de marzo del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3232666/>

33. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. Prospecto: Información para el usuario Metronidazol NORMON 250 mg comprimidos EFG (Metronidazol). España [Internet]. 2016 [Consultado el 15 de marzo del 2019]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dohtml/p/62223/Prospecto_62223.html
34. Guzmán de Rondón, C., Vethencourta, M., Galindo Pérez, M., Chacón, N., Wagner, C. and Paduana, A. (2008). *Comportamiento biológico de Blastocystis hominis en pacientes tratados con Secnidazol (Unidazol®)*. [Internet] Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. [Consultado el 14 de marzo del 2019]. Disponible en: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_vm/article/view/522/473
35. Sekar, U. and Shanthi, M. (2013). *Blastocystis: Consensus of treatment and controversies*. [Internet] Tropical Parasitology. [Consultado el 15 marzo del 2019]. Disponible en: <http://www.tropicalparasitology.org/article.asp?issn=2229-5070;year=2013;volume=3;issue=1;spage=35;epage=39;aulast=Sekar>
36. Ajjampur, S. and Tan, K. (2016). *Pathogenic mechanisms in Blastocystis spp. — Interpreting results from in vitro and in vivo studies*. [Internet] Elsevier. [Consultado el 10 de marzo del 2019]. Disponible en: <http://www.cmcwrl.in/publications/Parasitology-International.pdf>
37. Puthia, M., Sio, S., Lu, J. and Tan, K. (2006). *Blastocystis ratti Induces Contact-Independent Apoptosis, F-Actin Rearrangement, and Barrier Function Disruption in IEC-6 Cells*. [Internet] NCBI.gov/PMC. [Consultado el 14 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1489721/>
38. Lukeš J, Stensvold C, Jirků-Pomajbíková K, Wegener Parfrey L. Are Human Intestinal Eukaryotes Beneficial or Commensals? [Internet]. PLOS Pathogens. 2015 [Consultado el 9 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1005039>
39. Scanlan, P., Stensvold, C., Rajilić-Stojanović, M., Heilig, H., De Vos Paul, W., O'Toole, W. and Cotter, P. (2014). *The microbial eukaryote Blastocystis is a prevalent and diverse member of the healthy human gut microbiota*. [Internet] Oxford Academy/FEMS. [Consultado el 27 marzo de 2019]. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsec/article/90/1/326/2680528>
40. Moraes, T. and Downey, G. (2012). *Pulmonary Host Defenses*. [Internet] Clinical Respiratory Medicine (Fourth Edition). [Consultado el 15 de mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/toll-like-receptor-3>
41. Scanlan, P. and Stensvold, C. (2013). *Blastocystis: getting to grips with our guileful guest*. [Internet] ScienceDirect. [Consultado el 15 de mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492213001426>