

Blastocystis hominis en pacientes celíacos sintomáticos

Oscar Manuel Villa Jiménez,¹ Ángel Escobedo Carbonell,² Olga Marina Hano García,³ Lisette Wood Rodríguez,³ Frank Pérez Triana,⁴ Licet González Fabián⁵

¹ Departamento de Intestino Delgado y Enfermedades Malabsortivas, Instituto de Gastroenterología.

² Departamento de Microbiología y Parasitología, Hospital Pediátrico Universitario "Pedro Borrás".

³ Departamento de Enfermedades del Colon, Instituto de Gastroenterología.

⁴ Departamento de Endoscopia Digestiva, Instituto de Gastroenterología.

⁵ Departamento de Anatomía Patológica, Instituto de Gastroenterología; La Habana, Cuba.

Acta Gastroenterol Latinoam 2012;42:175-181

"A la memoria del eterno Prof Dr Juan Carlos Gómez".

Resumen

Introducción. La enfermedad celíaca (EC) no diagnosticada o no tratada compromete histológica, inmunológica y nutricionalmente a quienes la sufren. Estas alteraciones permitirían la infección por parásitos que no causarían síntomas en pacientes inmunocompetentes, como por ejemplo el *Blastocystis hominis* (Bh). **Objetivo.** Analizar la presencia de Bh en celíacos sintomáticos y describir el cuadro clínico, estado histológico, inmunológico y nutricional en dichos pacientes. **Material y métodos.** Estudio observacional descriptivo, de corte transversal. Ingresaron al estudio 30 pacientes celíacos sintomáticos (18 mujeres, edad promedio 41 años, rango 19-68 años) asistidos en el Instituto de Gastroenterología de Cuba desde enero hasta diciembre de 2009. **Resultados.** La diarrea y la anemia crónica resultaron ser las manifestaciones clínicas más reportadas (22 y 4 pacientes, respectivamente). El análisis con más de 5 Bh por campo resultó ser más frecuente en el grupo de pacientes estudiados (63.3%), con diferencia estadísticamente significativa en pacientes con atrofia de las vellosidades y bajo peso ($P < 0.03$) comparado con los casos con menos de 5 Bh por campo. No se demostraron diferencias significativas al analizar el estado inmunológico de los pacientes. **Conclusiones.** En pacientes celíacos sintomáticos con atrofia vellositaria subtotal-total y bajo peso, la determinación con más de 5 Bh por campo debería considerarse oportuna.

Palabras Claves. Enfermedad celíaca, *Blastocystis hominis*.

Blastocystis hominis in symptomatic celiac patients

Summary

Introduction. Celiac disease (EC) not diagnosed or treated affect histological, immunological and nutritional status of patients who suffer it. These changes allow infection by parasites that cause no symptoms in immunocompetent patients, such as *Blastocystis hominis* (Bh). **Objective.** To analyze the presence of Bh in symptomatic celiac patients and describe the clinical, histological, immune and nutritional status in these patients. **Material and method.** An observational descriptive cross sectional study was performed. Thirty symptomatic celiac patients (18 women, mean age 41 years old, range 19-68 years), assisted at the Institute of Gastroenterology of Cuba from January to December 2009, entered the study. **Results.** Diarrhea and chronic anemia were the most commonly reported clinical manifestations (22 and 4 patients, respectively). The analysis of more than five Bh per field was more frequent in the group of patients studied (63.3%), with statistically significant difference in patients with villous atrophy and low weight ($P < 0.03$) compared to cases with less than five Bh per field. No significant differences were found when the immune status of patients was analyzed. **Conclusions.** In symptomatic celiac patients with subtotal-total villous atrophy and low weight the finding of more than five Bh per field should be considered as opportunistic.

Key words. Celiac disease, *Blastocystis hominis*.

Abreviaturas.

EC: Enfermedad Celíaca.

Bh: *Blastocystis hominis*.

Correspondencia: Oscar Manuel Villa Jiménez
Montoro #56-2B entre Bruzón y Lugareño. La Habana. Cuba.
Tel: (53-7) 878-6381
E-mail: villa@infomed.sld.cu

La enfermedad celíaca (EC) constituye una entidad en la que actúan factores inmunológicos, genéticos y ambientales y en la que existe una sensibilidad al gluten, fracción proteica presente en el trigo, la cebada y el centeno. Su prevalencia mundial ha llegado a la alarmante cifra de 1:100 habitantes.¹⁻³ Aunque puede debutar en la edad adulta de manera similar a la EC clásica observada en el niño, su cuadro clínico es muy variable e inespecífico, pudiendo simular otras entidades (formas atípicas y silentes). Por tal motivo, actualmente está protocolizada la pesquisa de la EC en pacientes que presenten anemia crónica, infertilidad, diversas lesiones dermatológicas, dolor abdominal recurrente, enfermedad por reflujo refractaria al tratamiento habitual, estomatitis aftosa, entre otras alteraciones.¹⁻⁴

Apoyado en estudios serológicos y genéticos, el *gold standard* diagnóstico es la biopsia duodeno-yeyunal tomada por vía endoscópica o por cápsula de biopsia peroral, aceptándose los criterios de Marsh modificados,⁵ mediante los cuales se evalúa principalmente el número de linfocitos intraepiteliales, la hiperplasia críptica y el grado de atrofia vellositaria, aunque las características histológicas no son patognomónicas de la entidad.^{1,2,6}

Una gran variedad de parásitos provocan alteraciones funcionales y estructurales a nivel de la mucosa intestinal, lo que conduce a la práctica de medidas terapéuticas convencionales y específicas que mejoran el estado del paciente, pero muchas veces no eliminan totalmente los síntomas, lo cual es frecuentemente interpretado como refractariedad al tratamiento. Esta es una situación muy habitual en los pacientes celíacos no diagnosticados de la población cubana, quienes durante los interrogatorios describen múltiples tratamientos antiparasitarios, incluso por años, sin mejoría del estado clínico y nutricional.^{3,7-10}

Síntomas inespecíficos como la distensión abdominal y el meteorismo conllevan a que comúnmente se realicen múltiples estudios de heces arrojando la presencia de otros patógenos a los cuales se les atribuye el cuadro clínico persistente. En tales situaciones se describen usualmente gérmenes como *Blastocystis hominis* (Bh) y *Endolimax nana*, ambos con patogenicidad para el ser humano discutida durante mucho tiempo.^{7,11,12}

En el Instituto de Gastroenterología de Cuba consultan un número importante de pacientes adultos con situaciones similares a las antes descritas en

los que los estudios serológicos, histológicos, inmunológicos y nutricionales describen una EC francamente activa y establecida. En las heces de estos pacientes es muy frecuente encontrar varios parásitos, entre ellos Bh (observación personal no publicada). Este parásito es un protozoo entérico de tamaño variable entre 3 y 30 µm, que generalmente infecta al colon, mostrando cuatro formas: amebode, vacuolada, granular y quística. Tiene distribución mundial, con preferencia en los trópicos y es frecuentemente reportado como un parasitismo aislado en los estudios de pacientes inmunocompetentes, no así en inmunodeprimidos donde acostumbra a encontrarse asociado a otros gérmenes.^{7,8,13-19}

El cuadro clínico asociado a su infección (Tabla 1) consiste en dolor abdominal, diarreas crónicas que pueden alternar con estreñimiento, vómitos, flatulencia y distensión abdominal, sin correlacionarse la carga parasitaria con los síntomas. En un estudio realizado en Cuba por Escobedo y col se demostró que el Bh prevaleció sobre el resto de los parásitos diagnosticados con asociación entre su infección y el dolor abdominal.²⁰ Se plantea que el hallazgo en heces de más de 5 parásitos por campo se asocia a cuadros sintomáticos.^{13,14,20-22}

Debido a todas las características de la infección por Bh que no sólo simula otras infecciones parasitarias sino también la expresión clínica inespecífica de la EC en adultos (Tabla 1), se realizó un estudio con el objetivo de determinar la presencia de Bh en celíacos sintomáticos y describir el cuadro clínico, estado histológico, inmunológico y nutricional en dichos pacientes.

Tabla 1. Cuadro clínico más frecuentemente reportado.

Enfermedad celíaca del adulto	Infección por <i>Blastocystis hominis</i>
Diarrea crónica con malabsorción intestinal	Diarrea crónica que puede alternar con estreñimiento
Distensión abdominal	Distensión abdominal
Anorexia	Dolor abdominal
Dolor abdominal recurrente	Vómitos
Estreñimiento	Flatulencia
Vómitos	

Materiales y métodos

Es un estudio observacional descriptivo y de corte transversal.

Población estudiada

Ingresaron al estudio todos los pacientes con diagnóstico de EC sintomática, atendidos durante

el año 2009 en la consulta de intestino delgado y enfermedades malabsortivas de adultos del Instituto de Gastroenterología de Cuba.

Criterios de inclusión

- Pacientes celíacos con edad igual o mayor de 18 años.
- Presencia de síntomas relacionados con la EC en el momento del estudio (diarrea crónica, pérdida de peso, dolor abdominal recurrente, anemia crónica, vómitos, distensión abdominal, etc.).
- Determinación de *Bh* en heces, evaluación nutricional e inmunológica analizadas durante el período sintomático.
- Realización de una biopsia de duodeno y/o yeyuno un mes antes o después del estudio de las heces.
- Pacientes que aceptaron participar en el estudio y firmaron el consentimiento informado diseñado para el mismo.

Criterios de exclusión

- Pacientes con biopsia no útil para evaluar según criterios de Marsh modificado.
- Pacientes en los cuales se demostró otra causa importante de descompensación (transgresión dietética con consumo de gluten, otros patógenos en heces como bacterias u otros parásitos, etc.).
- Pacientes con déficit selectivo de IgA.

Diagnóstico de enfermedad celíaca

El diagnóstico de EC se basó en la presencia de alteraciones histológicas en la biopsia de la mucosa de duodeno y/o yeyuno empleando la clasificación de Marsh modificada,⁵ con positividad para anticuerpos IgA e IgG antitransglutaminasa tisular en suero utilizando el diagnosticador *HeberFast Line*[®],²³ con respuesta clínica y serológica posterior a la dieta libre de gluten.

Variables y procedimiento del estudio

Para la determinación de *Bh* en heces se empleó la técnica de examen microscópico directo con tinción de lugol, agrupando los resultados en determinaciones de 1-5 trofozoitos y en más de 5 trofozoitos por campo (evaluando no menos de 5 campos con aumento x400).

La valoración nutricional se realizó únicamente por el cálculo del índice de masa corporal (IMC) según orienta la OMS (<http://www.who.int/es/>), agrupándose en desnutrido, bajo peso, peso normal y sobrepeso.

El estado inmunológico fue evaluado únicamente por los valores en g/l de IgA, IgG e IgE (las más empleadas en la EC y parasitosis refractarias en la institución de la investigación), agrupando los resultados en *normal* (valores dentro del rango normal en todas las inmunoglobulinas) y *alterado* (al menos una inmunoglobulina fuera del rango normal).

Las muestras de mucosa del intestino delgado fueron tomadas por vía endoscópica o por cápsula de Crosby y evaluadas según la clasificación histológica de Marsh modificada.⁵ Como manifestaciones clínicas asociadas a la EC se registraron solo síntomas y signos reconocidos y descritos en la entidad, presentes en el momento del estudio de forma aguda (recaída) o mantenida (persistente), considerando principalmente: diarrea aguda o crónica, anemia crónica de etiología no precisada, dolor abdominal recurrente, enfermedad por reflujo gastroesofágico y síndrome emético refractario al tratamiento sin causa orgánica ni funcional demostrada, lesiones herpetiformes en piel y pérdida de peso.

Consideraciones éticas

Todos los pacientes que formaron parte del estudio firmaron un consentimiento. Aquellos pacientes que no pudieron ser incluidos fueron asistidos de forma indiferenciada como rigen las normas de la Salud Pública Cubana e Internacional. Para la redacción y estructura del consentimiento informado, se siguieron y respetaron los principios éticos de la Declaración de Helsinki.²⁴

Análisis estadístico

El análisis descriptivo de los datos se realizó mediante distribuciones de frecuencias absolutas y relativas. Con el fin de investigar la posible existencia de diferencias significativas entre los grupos definidos por la presencia de *Bh* (1-5 y >5 trofozoitos por campo) se realizó la prueba de chi cuadrado. En las tablas de contingencia con al menos una celda con valor esperado menor de 5 se utilizó la prueba exacta de Fisher. De lo contrario, se asumió el valor de Yates. En todos los casos se asumió un nivel de significación del 5%. Los datos fueron registrados en *Microsoft Office Excel*[®] 2010 y se analizaron empleando como herramienta estadística el sistema *Epi Info v6* para MS-DOS[®].

Resultados

Se asistieron en el período estimado un total de 37 pacientes celíacos sintomáticos, de los cuales

Tabla 2. Determinación de *Blastocystis hominis* en heces según parámetros estudiados.

Parámetros	Bh / campo 1 – 5 (n=11)		Bh / campo > 5 (n=19)		Total (n=30)		P
	n	%	n	%	n	%	
Manifestaciones clínicas							
Diarreas crónicas	6	54,5%	16	84,2%	22	73,3%	0,10
Anemia crónica	4	36,4%	0	0,0%	4	13,3%	0,01
Dolor abdominal recurrente	0	0,0%	2	10,5%	2	6,7%	0,52
ERGE	1	9,1%	1	5,3%	2	6,7%	1,00
Estado inmunológico							
Normal	8	72,7%	8	42,1%	16	53,3%	0,21
Alterado	3	27,3%	11	57,9%	14	46,7%	0,21
IMC							
Desnutrido	0	0,0%	2	10,5%	2	6,7%	0,52
Bajo peso	1	9,1%	10	52,6%	11	36,7%	0,02
Peso normal	8	72,7%	7	36,8%	15	50,0%	0,13
Sobrepeso	2	18,2%	0	0,0%	2	6,7%	0,13
Grado histológico							
Ila	4	36,4%	0	0,0%	4	13,3%	0,01
Ilb	6	54,5%	9	47,4%	15	50,0%	1,00
IIc	1	9,1%	10	52,6%	11	36,7%	0,02

Bh: *Blastocystis hominis*.

ERGE: Enfermedad por reflujo gastroesofágico.

IMC: Índice de masa corporal.

solo 30 cumplieron con los criterios de inclusión (18 mujeres, edad promedio 41 años, rango 19 a 68 años). El diagnóstico de *Bh* fue establecido en 19 casos (63,3%). Fueron excluidos 5 pacientes por transgresión dietética (consumo de gluten de forma consciente) y 2 por presentar giardiasis asociada.

La característica clínica más asociada fue la diarrea crónica, presente en 22 casos (73,3%) y más frecuente en el grupo con más de 5 *Bh* por campo (16 casos; 53,3%). La anemia crónica, segunda manifestación más frecuente en la investigación, solo se reportó en 4 casos (36,4%) del grupo con 1 a 5 *Bh* por campo, con diferencia significativa entre ambos grupos ($P < 0,02$) (Tabla 2).

Al analizar el estado inmunológico de los pacientes, se observó que el 46,7% de los casos presentó al menos una determinación de inmunoglobulina alterada, con predominio del grupo con más de 5 *Bh* por campo en heces (NS) (Tabla 2).

Al evaluar el estado nutricional, 15 pacientes (50%) presentaron peso normal, distribuidos prácticamente en igual número entre ambos grupos. Sin embargo, otro grupo de 11 pacientes (36,7%) presentó bajo peso, con el mayor número en el grupo con más de 5 *Bh* por campo, demostrándose diferencia significativa ($P < 0,03$). Solo se encontraron 2 pacientes en los grupos desnutrido y sobrepeso (Tabla 2).

Según la clasificación de Marsh modificada,⁵ las biopsias de intestino mostraron atrofia en el 100% de los pacientes (Marsh III o superior): IIb en 15 pacientes (50%), IIc en 11 (36,7%) y IIIa en 4 (13,3%). En el grupo con histología IIIa predominaron los pacientes con 1 a 5 *Bh* por campo ($P < 0,02$). Por el contrario, en el grupo IIc predominaron los pacientes con más de 5 *Bh* por campo ($P < 0,03$) (Tabla 2).

Discusión

La EC es una entidad frecuente que hasta hace muy poco tiempo se reconocía solamente en la infancia. En años más recientes, el incremento de su incidencia está dado por el aumento de su pesquisa gracias a métodos serológicos antes de realizar la biopsia de duodeno y/o yeyuno que es el *gold-standard* diagnóstico. No obstante, existe un subdiagnóstico de la misma por la alta incidencia de parasitismo intestinal tanto en Cuba como en el resto del mundo, causa que se manifiesta con síntomas digestivos como la diarrea crónica y el dolor abdominal recurrente, por lo que los pacientes son tratados cada vez en este sentido cuando es diagnosticado algún germen en heces y/o intubación duodenal, sin sospechar otra patología como la EC.^{1,2,15-17}

Entre los parásitos más frecuentemente diagnosticados en heces en Cuba se encuentra el *Bh*, sobre el

cual existe actualmente debate en cuanto a su patogenicidad. Parte de la literatura asocia su valor patógeno en determinaciones por encima de 5 gérmenes por campo, sin embargo, estudios epidemiológicos *in vivo* e *in vitro* sugieren fuertemente que el género *Blastocystis* es patógeno independientemente de su taxonomía y determinación cuantitativa en heces. Además, guarda relación su expresión clínica o patógena con el estado inmunológico de los pacientes, la presencia de enfermedades del tracto digestivo y condiciones higiénicas de la población.^{3,8,12,17}

De las revisiones realizadas en búsquedas certificadas, no se encontró ningún estudio sobre *Bh* en pacientes con EC. Con el propósito de demostrar la presencia de este parásito en las heces de pacientes celíacos sintomáticos, no tanto como causa de la sintomatología sino como parte de ésta o desarrollo oportunista ante las situaciones fisiopatológicas que la EC genera en el ser humano, se decidió realizar la presente investigación.

La expresión de la EC en los adultos tiene muchas formas clínicas, siendo la más frecuente la subclínica/silente, mientras que en las formas sintomáticas predominan la enfermedad diarreica crónica con malabsorción intestinal, la anemia crónica y el dolor abdominal recurrente. En la investigación prevaleció ampliamente la diarrea crónica, destacándose el grupo de *Bh* con más de 5 gérmenes por campo. La característica de la diarrea en estos pacientes muestra diferentes variantes. Las heces pueden ser líquidas o esteatorreicas si la diarrea se debe a la EC aisladamente pero con la presencia de *Bh* pueden aparecer heces con flemas sin ser líquidas ni esteatorreicas. Ambas condiciones convierten al *Bh* en potencial patógeno del cuadro clínico, ya que su sobrecrecimiento está condicionado por el deterioro de la mucosa intestinal alta (intestino delgado) que impide la correcta absorción de los productos de la digestión, con el consiguiente compromiso inmune y alteraciones del tránsito intestinal, permitiendo al parásito llegar y desarrollarse ampliamente en el colon luego de su ingestión oral.^{3,4,8,18,25}

Yavasoglu y col realizaron una investigación con el objetivo de definir la asociación entre *Bh* y anemia por déficit de hierro, encontrando diferencia significativa entre grupos con y sin el parásito.²² Aunque su muestra fue de 212 pacientes, el autor concluye que el *Bh* puede jugar un papel en el desarrollo de la anemia por déficit de hierro, ya sea solo o en conjunto con otros parásitos. Sin embargo,

en el presente estudio la anemia crónica se ubicó en segundo lugar y aunque se demostró diferencia estadísticamente significativa, todos los registros pertenecieron exclusivamente al grupo de 1 a 5 *Bh*, lo cual no responde al criterio de patogenicidad superior a los 5 trofozoitos por campo ni coincide con el estudio antes citado.^{4,13,14,19-22}

Los valores detectados de inmunoglobulinas en los pacientes estudiados coinciden con la literatura, teniendo en cuenta que en la EC se ha demostrado un aumento de la permeabilidad intestinal que expone al sistema inmunológico a disímiles antígenos y además puede asociarse frecuentemente con el déficit selectivo de IgA, entidad por la cual muchas veces se ignoran diagnósticos de EC al dar negativas las pruebas serológicas basadas en anticuerpos con IgA.^{2,25} De no tenerse en cuenta ambas situaciones, se podría malinterpretar una infección por *Bh* como causa principal de los síntomas de un paciente y no como una infección del mismo sobre un paciente vulnerable inmunológicamente como puede ocurrir en los celíacos no diagnosticados.

Es usual que el paciente celíaco recién diagnosticado o descompensado tenga algún compromiso nutricional. En la muestra estudiada existió predominio discreto de pacientes sin alteraciones en el peso, pero en el grupo con bajo peso predominaron las determinaciones con más de 5 *Bh* por campo, con diferencia estadísticamente significativa. El cuadro clínico producido por *Bh* puede empeorar el estado nutricional de los pacientes, pero para ello debe existir compromiso intestinal previo por otra causa como la EC, ya que su colonización colónica no interfiere en la absorción en pacientes previamente sanos.^{12,13} En un interesante trabajo Zonta y col reportan asociación entre el estado nutricional de la población analizada y la infección por *Bh*, lo que concuerda con los resultados del presente estudio.²⁶

Es poco probable que un paciente celíaco con sintomatología relacionada con el sistema digestivo no presente algún grado de atrofia de las vellosidades intestinales. Este criterio avala los resultados obtenidos en el presente estudio, donde el 100% de los casos presentaron histología Marsh III.^{2,5,6} Resulta interesante que en los pacientes con Marsh IIIa (atrofia parcial) predominaron las determinaciones de 1-5 trofozoitos por campo, mientras que en los pacientes con Marsh IIIc (atrofia total) prevalecieron las determinaciones con más de 5 trofozoitos por campo, con diferencias estadísticamente

significativas en ambos casos. Teniendo en cuenta que el mayor número de pacientes se distribuyeron en el grupo con atrofia subtotal (Marsh IIIb) en el que no hubo diferencias significativas, se podría plantear que a mayor grado de atrofia aumenta la posibilidad de presentar más determinaciones de *Bh* por campo cuando su determinación es positiva. Estos resultados podrían responder al hecho de que los pacientes con atrofia subtotal o total presentan trastornos absortivos evidentes, lo cual provoca disminución de las defensas lumenales y mayor posibilidad de colonización de enteropatógenos. Un estudio muy interesante publicado por Deniz y col refleja que se detectó un aumento de linfocitos intraepiteliales en el 11,5% de 104 apendicectomías y en la mitad de estos casos existió asociación con la infección por *Bh*.²⁷ Analizando este estudio, se puede inferir que la infección por *Bh* puede simular hasta el tipo I de Marsh, con solo infiltrado de linfocitos intraepiteliales, lo que podría ocurrir con otros parásitos.^{1,2,15,16,25,28,29}

En resumen, diarrea y anemia crónica resultaron ser las manifestaciones clínicas más frecuentemente reportadas. Asimismo, la determinación con más de 5 *Bh* por campo resultó ser más frecuente, con diferencia estadística significativa, en los pacientes con atrofia total de las vellosidades y en los de bajo peso. Sin embargo, no se hallaron diferencias al analizar el estado inmunológico de los pacientes. Futuros estudios con un tamaño de muestra mayor y mejor diseño podrían confirmar los resultados ahora reportados.

Referencias

- Gomollón García F. Enfermedad celíaca (Sensibilidad al gluten). En: Montoro MA ed. Gastroenterología y Hepatología. Problemas comunes en la práctica clínica. 1ª ed. Madrid: JARPYO Editores, 2006:279-288.
- Bai J, Vázquez H, Smecuol E, Planzer D M. Enfermedad Celíaca. Rev Med Clin Condes 2008;19:371-380.
- Camilleri M. Chronic diarrhea: a review on pathophysiology and management for the clinical gastroenterologist. Clin Gastroenterol Hepatol 2004;2:198-206.
- Farrell J. Digestión y absorción de nutrientes y vitaminas. En: Feldman M, Friedman L, Sleisenger M, eds. Sleisenger & Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management. 8ª ed. Philadelphia: Saunders, 2006:1824-1857.
- Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, von Blomberg BM, Meijer JW, Mulder CJ. Sensitivity of antiendomysium and anti-tigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice. Am J Gastroenterol 1999;94:888-894.
- Marsh M. Mucosal pathology in gluten sensitivity. En: Marsh M, ed. Coeliac disease. Oxford: Blackwell Scientific, 1992.
- Houston C, Guerrant R. Protozoos intestinales. En: Feldman M, Friedman L, Sleisenger M, eds. Sleisenger & Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management. 8ª ed. Philadelphia: Saunders, 2006:2060-2075.
- Navaneethan U, Giannella RA. Mechanisms of infectious diarrhea. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol 2008;5:637-647.
- Pezzani BC, Minvielle MC, Ciarmela ML, Apezteguia MC, Basualdo JA. Participación comunitaria en el control de las parasitosis intestinales en una localidad rural de Argentina. Rev Panam Salud Pública 2009;26:471-477.
- Escobedo AA, Canete R, Nunez FA. Intestinal protozoan and helminth infections in the Municipality San Juan y Martínez, Pinar del Rio, Cuba. Trop Doct 2007;37:236-238.
- Tan KS. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. Clin Microbiol Rev 2008;21:639-665.
- Gregg C, Toskes P. Flora bacteriana entérica y síndrome de sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado. En: Feldman M, Friedman L, Sleisenger M, eds. Sleisenger & Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management. 8ª ed. Philadelphia: Saunders, 2006:1898-1907.
- Kuo HY, Chiang DH, Wang CC, Chen TL, Fung CP, Lin CP, Cho WL, Liu CY. Clinical significance of *Blastocystis hominis*: experience from a medical center in northern Taiwan. J Microbiol Immunol Infect 2008;41:222-226.
- Boeke CE, Mora-Plazas M, Forero Y, Villamor E. Intestinal protozoan infections in relation to nutritional status and gastrointestinal morbidity in Colombian school children. J Trop Pediatr 2010;56:299-306.
- Headstrom PD, Surawicz CM. Chronic diarrhea. Clin Gastroenterol Hepatol 2005;3:734-737.
- Schiller LR. Chronic diarrhea: To biopsy or not to biopsy. Gastrointest Endosc 2005;61:376-377.
- Carwford J. Aparato gastrointestinal. Intestino delgado y grueso. En: Cotran R, Kumar V, Collins TR, eds. Patología Estructural y Funcional. 6a ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana, 2004:836-874.
- Thomas PD, Forbes A, Green J, Howdle P, Long R, Playford R, Sheridan M, Stevens R, Valori R, Walters J, Addison GM, Hill P, Brydon G. Guidelines for the investigation of chronic diarrhoea, 2ª edición. Gut 2003;52 (Suppl 5):v1-v15.
- Binder HJ. Causes of chronic diarrhea. N Engl J Med 2006;355:236-239.
- Escobedo AA, Canete R, Nunez FA. Prevalence, risk factors and clinical features associated with intestinal parasitic infections in children from San Juan y Martínez, Pinar del Rio, Cuba. West Indian Med J 2008;57:377-382.

21. Kaya S, Cetin ES, Aridogan BC, Arikan S, Demirci M. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*, a clinical reevaluation. *Turkiye Parazitol Derg* 2007;31:184-187.
22. Yavasoglu I, Kadikoylu G, Uysal H, Ertug S, Bolaman Z. Is *Blastocystis hominis* a new etiologic factor or a coincidence in iron deficiency anemia? *Eur J Haematol* 2008;81:47-50.
23. Galván JA, Acevedo B, Novoa LI, Palenzuela DO, Rubí JA, Torres E, Leal V, Castellanos M, Talavera C, Blanco R, Muñoz M, Benítez L, Machín Y, López B, Roche D, Díaz T, Rodríguez A, Cintado A, Marchena L, López E. Desarrollo, validación y registro del sistema HeberFast Line® Anti-Transglutaminasa. Contribución al diagnóstico de la enfermedad celíaca en Cuba. *Biotechnol Apl* 2008;25:62-65.
24. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *J Int Bioethique* 2004;15:124-129.
25. Farrell R, Kelly C. Esprue celíaca y esprue refractaria. En: Feldman M, Friedman L, Sleisenger M, eds. *Sleisenger & Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management*. 8ª ed. Philadelphia: Saunders, 2006:1935-1959.
26. Zonta ML, Oyhenart EE, Navone GT. Nutritional status, body composition, and intestinal parasitism among the Mbya-Guarani communities of Misiones, Argentina. *Am J Hum Biol* 2010;22:193-200.
27. Deniz K, Sokmensuer LK, Sokmensuer C, Patisroglu TE. Significance of intraepithelial lymphocytes in appendix. *Pathol Res Pract* 2007;203:731-735.
28. Ravikumara M. Investigation of chronic diarrhoea. *Paediatr Child Health* 2008;18:441-447.
29. Bohra S, Manning D, Byrne M, Patchett S, Murray F. Utility of selective organic symptoms in the diagnosis of chronic diarrhoea. *Gastroenterology* 2003;124:A144.