

Blastocystosis y otras infecciones intestinales por parásitos eucarióticos en *Gallus gallus domesticus* en localidades del sur de Chile

Blastocystosis and other intestinal infections by eukaryotic parasites of *Gallus gallus domesticus* in localities of southern Chile

Patricio Torres^{1,3}, Omar Cerna¹, Alonso Rubilar¹, Álvaro Subiabre¹, Pablo Oyarzún²

RESUMEN

El propósito de esta investigación fue determinar la presencia y prevalencia de blastocystosis, zoonosis causada por *Blastocystis* sp, en gallinas criadas libremente en domicilios de localidades del sur de Chile. Las muestras de heces frescas de aves y humanos fueron colectadas con el fijador PAF y procesadas mediante el método del PAFS combinado con una fase de flotación con solución de sulfato de zinc. En la mitad de los domicilios se detectó *Blastocystis* sp en las aves con una prevalencia promedio de 14.2%, siendo mayor en la zona rural y en la localidad de Teupa ($p < 0.05$). La prevalencia en humanos fue mayor que en las gallinas de la localidad de Ñancul ($p < 0.05$), donde el parásito estuvo presente en ambos hospederos en 4 de 7 domicilios. La prevalencia de infección por *Entamoeba gallinarum* y presencia de huevos de *Toxocara* spp fue similar entre localidades, pero las prevalencias de *Eimeria* spp, Capillariidae gen. spp y *Heterakis gallinarum* / *Ascaridia galli* mostraron diferencias entre localidades ($p < 0.05$). Solo en Valdivia se registraron muestras con huevos de Trichostrongylidae gen. spp. La presencia de blastocystosis en gallinas se detecta por primera vez en Chile sugiriéndose su potencial transmisión hacia los humanos. La presencia de huevos de *Toxocara* spp en las heces de las aves sugiere que estas podrían actuar como dispersores ambientales.

Palabras clave: *Blastocystis*, heces, gallinas, humanos, parásitos intestinales

¹ Instituto de Parasitología, Facultad de Medicina, Edificio de Ciencias Biomédicas, Isla Teja, Valdivia, Chile

² Laboratorio de Parásitos y Enfermedades de Fauna Silvestre, Departamento de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán, Chile

³ E-mail: ptorres@uach.cl

Financiado parcialmente por el Programa de Diversidad de Parásitos y Zoonosis Transmitidas por Organismos Acuáticos. Dirección de Investigación y Desarrollo (DID N° 12010-02). Universidad Austral de Chile

Recibido: 21 de febrero de 2020

Aceptado para publicación: 28 de septiembre de 2020

Publicado: 21 de diciembre de 2020

ABSTRACT

The purpose of this investigation was to determine the presence and prevalence of blastocystosis, a zoonosis caused by *Blastocystis* sp in free-range hens in homes of different localities in southern Chile, simultaneously verify human infection in at least one locality, and identify other infections by intestinal parasites in birds. Fresh fecal samples from hens and humans were collected and preserved in PAF fixative and processed by the PAFS method combined with a flotation phase with zinc sulfate solution. *Blastocystis* sp was detected in half of the homes and the average prevalence was 14.2% in the total of localities being greater in the rural area and in the locality of Teupa ($p < 0.05$). The prevalence in humans was higher than in hens in the town of Ñancul ($p < 0.05$), where the parasite was present in both hosts in 4 of 7 households. The prevalence of infection by *Entamoeba gallinarum* and the presence of *Toxocara* spp eggs was similar between localities, but the prevalences of *Eimeria* spp, Capillariidae gen. spp and *Heterakis gallinarum* / *Ascaridia galli* showed differences between localities ($p < 0.05$). Only in Valdivia were observed samples with eggs of Trichostrongylidae gen. spp. The presence of blastocystosis in chicken was detected for the first time in Chile, suggesting its potential transmission to humans. The presence of *Toxocara* spp eggs in bird faeces suggests that they could act as environmental dispersers.

Key words: *Blastocystis*, faeces, hens, humans, intestinal parasites

INTRODUCCIÓN

La blastocystosis es una zoonosis emergente (Maloney *et al.*, 2019) causada por organismos unicelulares eucarióticos del género *Blastocystis*, incluidos en el Reino Chromista (Cavalier-Smith *et al.*, 2018), y presentes en anélidos, artrópodos, peces, anfibios, reptiles y un amplio espectro de aves y mamíferos, incluyendo el humano (Yoshikawa *et al.*, 2016a; Valenca-Barbosa *et al.*, 2019). La infección intestinal de transmisión fecal-oral tiene una alta prevalencia en la población humana, siendo más frecuente en países en desarrollo con deficientes condiciones de saneamiento ambiental (Tan, 2008; Andersen y Stensvold, 2016). Su transmisión se favorece a través del consumo de agua o alimentos contaminados con los estados quísticos del parásito (Tan, 2008).

La prevalencia de blastocystosis en gallinas (*Gallus gallus domesticus*) ha sido registrada en Australia (Lee y Stenzel, 1999),

Brasil (do Bomfim y Machado do Couto *et al.*, 2013), Malasia (Farah Hazigah *et al.*, 2014; Termizi *et al.*, 2018; Mohammad *et al.*, 2018), Indonesia (Yoshikawa *et al.*, 2016b), Polonia (Lewicki *et al.*, 2016), China (Wang *et al.*, 2018) y Líbano (Greige *et al.*, 2018).

La diversidad y especialmente la prevalencia de parásitos eucarióticos en gallinas en Chile ha sido escasamente estudiada, documentándose alrededor de 34 especies entre protozoos, platelmintos, nematodos y artrópodos (Alcaino y Gorman, 1999), sin registrarse *Blastocystis* sp. Sin embargo, la prevalencia de blastocystosis en población humana, de distinta edad y sectores rurales del sur de Chile fluctúa entre 27.2 y 64.3% (Torres *et al.*, 1990, 1997; Navarrete y Torres, 1994; Barra *et al.*, 2016) y en cerdos criados libremente alcanza un 22.2% (Torres *et al.*, 1992).

La patogenicidad de *B. hominis* es controvertida, sugiriéndose que es dependiente de nueve subtipos (ST1-ST9), basados en la

filogenia del gen de la subunidad rRNA (SSU-rDNA) (Yoshikawa *et al.*, 2016b). De estos, ocho han sido identificados en pollos, vacunos, ovinos, roedores, cerdos o primates no humanos (Ramirez *et al.*, 2014; Valenca-Barbosa *et al.*, 2019; Oliveira-Arbex *et al.*, 2018). Los subtipos ST1-ST2, ST4-ST8 pueden encontrarse en aves (Stensvold y Clark, 2016; Valenca-Barbosa *et al.*, 2019), siendo ST6-ST7 los más frecuentes (Stensvold y Clark, 2016). Sin embargo, la correlación entre subtipos zoonóticos y patogenicidad aún se encuentra en debate (Deng *et al.*, 2019) y en Chile el único estudio sobre subtipos de *Blastocystis* determinó ST1-ST2 y ST4 en 37 pacientes en la ciudad de Santiago (Peña *et al.*, 2018). En los casos sintomáticos, la infección humana ha sido asociada a diarrea, náuseas, constipación y dolor abdominal, asociándose también al síndrome de colon irritable y urticaria (Stensvold y Clark, 2016).

En el diagnóstico de *Blastocystis* se han utilizado métodos basados en el estudio de la morfología del parásito (microscopía) a través del examen de heces fijadas y teñidas, métodos de cultivo, detección de ADN (PCR), antígenos del parásito o anticuerpos (Stensvold y Clark, 2016). La identificación morfológica de *Blastocystis* sp es mediante el hallazgo de la forma vacuolada que se encuentra frecuentemente en las heces (García, 2007). Desde un punto de vista clínico, los métodos de microscopía no son tan sensibles en la detección de *Blastocystis*; sin embargo, hay situaciones en que pueden ayudar cuando el propósito es verificar su presencia en varios tipos de muestras no humanas, incluidas las de origen ambiental y animal (Stensvold y Clark, 2016).

Por la elevada prevalencia de blastocystosis humana en el sur de Chile, en especial en zonas rurales donde la población suele vivir en contacto con aves y otros animales domésticos, se planteó el presente estudio cuyos objetivos fueron: 1) determinar si la infección por *Blastocystis* sp está presente en gallinas en localidades del sur de Chile, 2) determinar la prevalencia en humanos y en

gallinas de su tenencia al menos en una de las localidades y, 3) determinar otras infecciones por parásitos intestinales en las aves.

MATERIALES Y MÉTODOS

Entre 2016 y 2019 se colectaron 176 muestras de heces frescas de gallinas criadas libres, en domicilios distribuidos en dos localidades urbanas: Valdivia (n=40) y Niebla (n=36) y en tres localidades rurales: Ñancul (n=50), Quilquico (n=22) y Teupa (n=28), las dos últimas situadas en la Isla Grande de Chiloé. Adicionalmente, en la localidad de Ñancul se colectaron 16 muestras de heces humanas en siete de los ocho domicilios donde se obtuvo las muestras de aves.

Las muestras (3-5 g de heces) fueron colocadas en frascos de plástico con 15 ml del fijador PAF (*phenol-alcohol-formalin*) (Burrows, 1967), homogenizándose con una varilla de madera. Las muestras fueron procesadas mediante el método de sedimentación propuesto por Burrows (1967) y adaptado por Torres y Navarrete (1972). De cada muestra procesada, se observaron dos preparaciones microscópicas utilizando cubreobjetos de 22 x 22 mm: una en la fase A del método (centrifugación de la muestra tamizada con NaCl 0.15M a 540 g durante 3 min, permitiendo mayor concentración de trofozoítos), y otra en la fase B (centrifugación del sedimento remanente de la fase A, con NaCl 015 M + 2 ml de acetato de etilo, que favorece la mayor concentración de quistes y huevos). Ambas preparaciones fueron teñidas con tionina de 0.1% y examinadas a 100 y 400x.

Adicionalmente, al sedimento remanente en el tubo de la fase B se agregó una solución de sulfato de zinc (70 g de sulfato de zinc en 100 ml de agua destilada), centrifugado durante 5 min a 540 g, para incrementar la recuperación de huevos de helmintos y coccidias (Torres *et al.*, 1972). Posteriormente, al tubo se le agregó solución de sulfato de

Cuadro 1. Prevalencia de infección por *Blastocystis* sp en *Gallus gallus domesticus* en domicilios del sector urbano y rural en el sur de Chile

Sector	Localidad	Domicilios examinados / positivos a <i>Blastocystis</i> sp	Prevalencia (pollos examinados/infectados)	
			Frecuencia	Porcentaje
Urbano	Valdivia	3/1	40/3	7.5 ^a
	Niebla	7/3	36/4	11.1 ^a
	Total	10/4	76/7	9.2 ^{ab}
Rural	Ñancul	8/5	50/7	14.0 ^a
	Quilquico	3/0	21/0	0 ^a
	Teupa	3/3	29/11	37.9 ^b
	Total	14/8	100/18	18.0 ^{cd}
Total		24/12	176/25	14.2

Superíndices con letras diferentes en la columna dentro de sectores y localidades indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

zinc hasta formar un menisco sobre el cual se depositó un cubreobjetos de 22 x 22 mm durante 30 min y luego colocado sobre un portaobjetos, examinándose a 100 y 400x.

La identificación de los parásitos se realizó con la literatura pertinente (Levine, 1961; Mehlhorn *et al.*, 1993; Tan, 2008). En el caso de los huevos de *Ascaridia galli* y *Heterakis gallinarum*, por ser morfológicamente similares, se registraron como *A. galli* / *H. gallinarum*.

El análisis de prevalencia para cada parásito entre distintas localidades incluyó la prueba de Chi cuadrado de Pearson, con corrección de Yates en el caso de dos muestras. Cuando hubo frecuencias esperadas inferiores a cinco, se utilizó la prueba exacta de Fisher para pares de muestras. Para la aplicación de las pruebas estadísticas se empleó el software EPI DAT 3.1TM. Para todas las pruebas, $p < 0.05$ fue considerada estadísticamente significativa, utilizando ensayos de dos colas.

RESULTADOS

Las formas vacuoladas de *Blastocystis* sp en las muestras de aves midieron $12.1 \pm 3.2 \mu\text{m}$ de diámetro (5-25 μm ; $n=84$), con una vacuola central y un delgado citoplasma periférico que incluyó un número variable de núcleos (Figura 1A-C). La forma vacuolada fue similar en las muestras humanas, midiendo $10.1 \pm 2.3 \mu\text{m}$ (7.5-15 μm ; $n=26$). En la mitad de los domicilios se encontraron gallinas infectadas con *Blastocystis* sp, siendo la prevalencia promedio de 14.2%, siendo mayor ($p < 0.05$) en la zona rural y, particularmente, en la localidad de Teupa (Cuadro 1). En la localidad de Ñancul, la prevalencia de infección en humanos fue mayor respecto a las aves ($p < 0.05$); además, la infección afectó simultáneamente a gallinas y humanos en 4 de los 7 domicilios, pero en los restantes solo estuvo presente en uno de los hospederos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Hospederos de *Blastocystis* sp y su prevalencia en domicilios de la localidad de Ñancul, Chile

Domicilio	Hospederos			
	Aves		Humanos	
	Examinadas	Infectadas	Examinados	Infectados
1	8	1	2	0
2	4	1	4	3
3	8	3	3	1
4	6	0	1	1
5	6	1	2	1
6	6	0	2	1
7	6	1	2	2
8	6	0	0	0
Total	50	7	16	9
Prevalencia (%)	14.0		56.3	

Prueba de Fisher ($p < 0.02$)Cuadro 3. Otros parásitos eucarióticos en heces de *Gallus gallus domesticus* en localidades del sur de Chile

Parásitos	Prevalencia (%) por localidad					(p) ¹	Total n=176
	Ñancul n=50	Valdivia n=40	Niebla n=36	Quilquico n=21	Teupa n=29		
Protozoos							
<i>Eimeria</i> spp.	20.0 ^a	45.0 ^b	30.6 ^a	57.1 ^b	34.5 ^a	(0.02)	34.7
<i>Entamoeba gallinarum</i>	6.0 ^a	5.0 ^a	2.7 ^a	0.0	6.9 ^a	NR	4.5
Nematodos							
Capillariidae gen. spp	46.0 ^a	80.0 ^c	33.3 ^a	14.3 ^b	13.8 ^b	(0.0)	42.0
Trichostrongylidae gen. spp	0.0	5.0	0.0	0.0	0.0	NR	1.1
<i>Heterakis gallinarum</i>	14.0 ^a	35.0 ^b	13.9 ^a	9.5 ^a	37.9 ^b	(0.01)	22.2
<i>Ascaridia galli</i>							
<i>Toxocara</i> spp	2.0 ^a	10.0 ^a	2.7 ^a	4.8 ^a	0.0	NR	4.0

¹ Comparación entre todas las localidades para cada parásitoNR: no realizada por haber frecuencias esperadas < 5 o presencia del parásito en una sola localidadSuperíndices diferentes dentro de las filas indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre pares de localidades, mediante las pruebas de Chi cuadrado o de Fisher

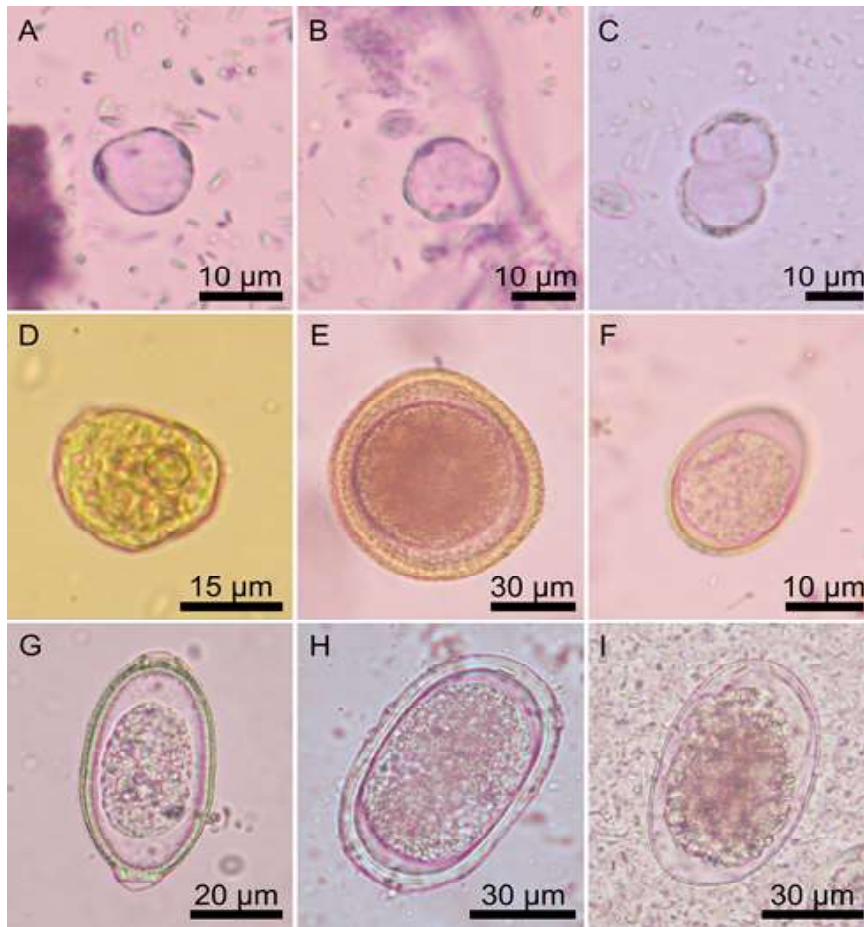


Figura 1. Parásitos intestinales de *Gallus gallus domesticus* en localidades del sur de Chile. (A-B) Formas vacuoladas de *Blastocystis* sp; (C) Forma vacuolada de *Blastocystis* sp en división; (D) Trofozoito de *Entamoeba gallinarum*; (E) Huevo de *Toxocara* sp; (F) Ooquiste de *Eimeria* sp; (G) Huevo de Capillariidae gen. sp.; (H) Huevo de *Ascaridia galli*/*Heterakis gallinarum*; (I) huevo de Trichostrongylidae gen. sp

La prevalencia de infección por *Entamoeba gallinarum* (Figura 1D) y la presencia de huevos de *Toxocara* sp (Figura 1E) no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) entre localidades (Cuadro 3). La prevalencia de *Eimeria* spp (Figura 1F) fue similar al comparar la mayoría de las localidades ($p > 0.05$), excepto en Ñancul donde fue inferior ($p < 0.05$) a Valdivia y Quilquico (Cuadro 3). Las prevalencias de infección por Capillariidae gen. spp (Figura 1G) y *H. gallinarum* / *A. galli* (Figura 1H) fueron superiores ($p < 0.05$) en Valdivia y Teupa, respecto a las demás locali-

dades (Cuadro 3). Solo en Valdivia se registraron muestras con huevos de Trichostrongylidae gen. spp (Figura 1I; Cuadro 3).

DISCUSIÓN

En el presente estudio se registra por primera vez la presencia y prevalencia por *Blastocystis* sp y *E. gallinarum* en gallinas de Chile y además se aportan datos de prevalencia para otros parásitos intestinales en distintas localidades del sur de este país. Las

formas vacuoladas de *Blastocystis* fueron morfológicamente similares a las descritas por otros autores con tamaños entre 3-120 μm (Lee y Stenzel (1999), 10.9-32.1 μm (do Bomfim y Machado do Couto, 2013) y 10-30 μm (Farah Haziqah *et al.*, 2014).

La prevalencia promedio de infección por *Blastocystis* sp en gallinas fue mayor en la zona rural ($p < 0.05$); sin embargo, la prevalencia de infección humana fue cuatro veces mayor a la encontrada en las gallinas de la localidad de Ñancul, donde además se observó la presencia simultánea de blastocystosis en aves y humanos en cuatro de los siete domicilios donde se presentó la infección, sugiriendo la posibilidad de transmisión entre ambos hospederos. Estudios previos de la prevalencia de blastocystosis humana en las localidades de Panguipulli y Choshuenco (56%) (Torres *et al.*, 1982), ambas cercanas a Ñancul, en Valdivia (50%) (Torres *et al.*, 1997), en Niebla (64%) (Navarrete y Torres, 1994) y en Natri y Huillinco (27%-41%), próximas a Teupa (Torres *et al.*, 1990); también sugieren ser comparativamente mayores que las prevalencias de blastocystosis determinadas en el presente estudio, en gallinas de la mayoría de las localidades; no obstante, se debe considerar el que muchos de estos trabajos son de años atrás.

Se requiere profundizar la determinación de los subtipos de *Blastocystis* en aves y humanos que comparten domicilios, ya que si bien existe la infección en ambos hospederos, esta podría ser causada por diferentes subtipos (Yoshikawa *et al.*, 2016b; Mohammad *et al.*, 2018). No obstante, también podría deberse a subtipos comunes indicando una situación zoonótica (Lewicki *et al.*, 2016; Greige *et al.*, 2018). El mayor porcentaje de infección en humanos podría, en parte, estar en relación con el mayor espectro de subtipos de *Blastocystis* que pueden vivir en su intestino respecto a aquellos que se establecen en pollos (Stensvold y Clark, 2016; Valenca-Barbosa *et al.*, 2019).

Respecto a la prevalencia de blastocystosis en aves de otros países, do Bomfim y Machado do Couto (2013) reportaron prevalencias de 22.9 y 42.8% en dos mercados de Brasil; Farah Haziqah *et al.* (2014) y Termizi *et al.* (2018) reportaron mayores prevalencias en pollos criados libremente respecto a otros sistemas de crianza. Con relación a los subtipos, Mohammad *et al.* (2018) detectaron ST1-ST3 en grupos humanos y solo ST6 en pollos, mientras que Lewicki *et al.* (2016) en dos granjas de Polonia encontraron prevalencias de 31% para ST6 y 24% para ST7 en aves criadas libremente, donde la infección humana es frecuente y ocasionalmente causada por ST6. De otra parte, Oliveira-Arbex *et al.* (2018) detectaron tres casos de infección con ST7 en niños de 1, 5, y 6 años, que vivían en contacto con gallinas criadas libres en los patios de sus casas.

Respecto a otros parásitos, *Entamoeba gallinarum*, considerada una ameba no patógena (Hooshyar *et al.*, 2015), se presentó con baja prevalencia en los sectores donde fue identificada alcanzando un máximo de 6.9% en Teupa. En el caso de infecciones por *Eimeria* spp, en Chile se han reportado *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. acerbulina*, *E. mitis* y *E. maxima* (Alcaino y Gorman, 1999), pero no hay registros publicados sobre su prevalencia en el país. En este estudio, la eimeriosis fue mayor ($p < 0.05$) en gallinas de las localidades de Valdivia y Quilquico.

La mayor prevalencia de Capillariidae gen. spp. correspondió a Valdivia, donde se han identificado *Eucoleus contortus* (= *Capillaria contorta*), *Baruscapillaria obsignata* (= *Capillaria obsignata*) y *Pterothominx caudinflata* (*Capillaria caudinflata*) con prevalencias de 15 a 25% (Torres *et al.*, 1974). La infección por *H. gallinarum* / *A. galli* alcanzó su mayor prevalencia ($p < 0.05$) en las localidades de Valdivia y Teupa. *Ascaridia galli* puede causar enteritis, diarrea, disminución en la producción de huevos, obstrucción y hemorragia intestinal en infecciones intensas (Soulsby, 1968). *Heterakis gallinarum* habitualmente

produce una patología leve que no afecta significativamente al rendimiento de las aves (Schwarz *et al.*, 2011). Sin embargo, *H. gallinarum* es económicamente importante para la industria avícola debido a que sus huevos sirven como vector para el protozoo *Histomonas meleagridis*, causante de lesiones severas en el tracto digestivo e hígado, provocando elevada mortalidad en las aves (Schwarz *et al.*, 2011; Cupo y Beckstead, 2019). Por otro lado, en la localidad de Valdivia se registraron huevos de la familia Trichostrongylidae que probablemente correspondan a *Trichostrongylus tenuis*, única especie de Strongylida registrada en gallinas de Chile (Alcaino y Gorman, 1999).

En la mayoría de las localidades las aves presentaron infecciones espurias al encontrarse huevos de *Toxocara* spp en sus heces, los que probablemente ingresaron a su tracto digestivo por ingestión de agua o alimentos contaminados. En todos los sitios de muestreo hubo presencia de perros que por ser hospederos definitivos de *T. canis* contribuyen a la contaminación del suelo con sus heces. Experimentalmente, se ha determinado que los huevos no infectantes de *T. canis* al pasar por el tracto digestivo de las aves y ser eliminados con las heces mantienen su viabilidad (Meriguetti *et al.*, 2018), lo cual aumenta las probabilidades de contaminación de alimento o agua de bebida y a la vez facilita la infección humana. Al menos, Vargas *et al.* (2016) en la localidad de Niebla determinaron 25% de seroprevalencia de toxocariosis en la población humana, cuyos principales factores de riesgo fueron la edad, ruralidad y carencia de agua potable.

CONCLUSIONES

- *Blastocystis* sp fue registrada por primera vez en gallinas en 4 de 5 de localidades del sur de Chile con prevalencia promedio de 14.2%, siendo más elevada en la zona rural y en la localidad de Teupa ($p < 0.05$).

- En la localidad de Ñancul, el examen de heces humanas y de gallinas reveló infección simultánea en cuatro domicilios.
- En las heces de las gallinas también se registraron trofozoítos y quistes de *Entamoeba gallinarum*, ooquistes de *Eimeria* spp, huevos de *H. gallinarum* / *A. galli*, Capillariidae gen.spp, Trichostrongylidae gen. spp y *Toxocara* spp.

LITERATURA CITADA

1. **Alcaino H, Gorman T. 1999.** Parásitos de los animales domésticos en Chile. Parasitol Día 23: 33-41. doi: 10.4067/S0716-07201999000100006
2. **Andersen LO, Stensvold CR. 2016.** Blastocystis in health and disease: are we moving from a clinical to a public health perspective? J Clin Microbiol 54: 524-528. doi: 10.1128/JCM.02520-15
3. **Barra M, Bustos L, Ossa X. 2016.** Desigualdad en la prevalencia de parasitosis intestinal en escolares de una escuela urbana y dos rurales de la comuna de Puerto Montt. Rev Med Chile 144: 886-893. doi: 10.4067/S0034-98872016000-700009
4. **Burrows R. 1967.** A new fixative and technics for the diagnosis of intestinal parasites. Tech Bull Regist Med Technol 37: 208-212.
5. **Cavalier-Smith T, Chao EE, Lewis R. 2018.** Multigene phylogeny and cell evolution of chromist infrakingdom Rhizaria: contrasting cell organization of sister phyla Cercozoa and Retaria. Protoplasma 255: 1517-1574. doi: 10.1007/s00709-018-1241-1
6. **Cupo KL, Beckstead RB. 2019.** *Heterakis gallinarum*, the cecal nematode of gallinaceous birds: a critical review: Avian Dis 63: 381-388. doi: 10.1637/0005-2086-63.3.381
7. **Deng L, Chai Y, Zhou Z, Liu H, Zhong Z, Hu Y, Fu H, et al. 2019.** Epidemiology of *Blastocystis* sp. infection in China: a systematic review.

- Parasite 26: 441. doi: 10.1051/parasite/2019042
8. **Do Bomfim TCB, Machado do Couto MC. 2013.** Morphological diagnosis and occurrence of *Blastocystis* sp. obtained from the stool samples of domestic bird species commercialized in municipal markets. *J Parasitol Vector Biol* 5: 20-26. doi: 10.5897/JPVB12.014
 9. **Farah Haziqah MT, Chandrawathani P, Mohd Zain SN, Suresh Kumar G, Hemalatha C, Premaalatha B. 2014.** A preliminary study of *Blastocystis* sp isolated from chicken in Perak and Selangor, Malaysia. *Malays J Vet Res* 5: 21-25.
 10. **García LS. 2007.** Diagnostic medical parasitology. 5° ed. Washington: ASM Press. 1202 p.
 11. **Greige S, El Safadi D, Bécu N, Gantois N, Pereira B, Chabé M, Benamrouz-Vanneste S, et al. 2018.** Prevalence and subtype distribution of *Blastocystis* sp isolates from poultry in Lebanon and evidence of zoonotic potential. *Parasites Vectors* 11: 389. doi: 10.1186/s13071-018-2975-5
 12. **Hooshyar H, Rostamkhani P, Rezaelan M. 2015.** An annotated checklist of the human and animal *Entamoeba* (Amoebida: Endamoebidae) species-a review article. *Iranian J Parasitol* 10: 146-156.
 13. **Lee MG, Stenzel DJ. 1999.** A survey of *Blastocystis* in domestic chickens. *Parasitol Res* 85: 109-117.
 14. **Levine ND. 1961.** Protozoan parasites of domestic animals and of man. 2nd ed. USA: Burgess. 412 p.
 15. **Lewicki A, Rozej-Bielicka W, Salamatin R. 2016.** *Blastocystis hominis* s.l. - parasite of chickens - new zoonotic agent in Poland. *Ann Parasitol* 62:203.
 16. **Maloney JG, Lombard JE, Urie NJ, Shivley CB, Santin M. 2019.** Zoonotic and genetically diverse subtypes of *Blastocystis* in US pre-weaned dairy calves. *Parasitol Res* 118: 575-582. doi: 10.1007/s00436-018-6149-3
 17. **Mehlhorn H, Diwel D, Raether W. 1993.** Manual de parasitología veterinaria. Bogotá: Grass-Iatros. 436 p.
 18. **Merigueti YFFB, Raposo RS, Zampieri BP, Cerazo LML, Pereira L, Santarém VA. 2018.** Dispersion and infectivity of *Toxocara canis* eggs after passage through chicken intestine. *Parasitol Res* 117: 3481-3486. doi: 10.1007/s00436-018-6045-x
 19. **Mohammad NA, Al-Mekhlafi HM, Anuar TS. 2018.** Subtype distribution of *Blastocystis* isolated from humans and associated animals in an indigenous community with poor hygiene in Peninsular Malaysia. *Trop Biomed* 35: 849-860.
 20. **Navarrete N, Torres P. 1994.** Prevalencia de infección por protozoos y helmintos intestinales en escolares de un sector costero de la provincia de Valdivia. *Bol Chil Parasitol* 49: 79-80.
 21. **Oliveira-Arbex AP, Boarato David E, Guimaraes S. 2018.** *Blastocystis* genetic diversity among children of low-income daycare center in Southeastern Brazil. *Infection, Genet Evol* 57: 59-63. doi: 10.1016/j.meegid.2017.11.005
 22. **Peña S, Carrasco G, Rojas P, Gotteland M, Castillo D, Mercado R. 2018.** Determinación de subtipos de *Blastocystis* spp mediante secuenciación de la región 5' del gen SSU-rDNA en Chile. *Parasitol Latinoam* 67: 15-17.
 23. **Ramirez JD, Sánchez LV, Bautista DC, Corredor AF, Flórez AC, Stensvold CR. 2014.** *Blastocystis* subtypes detected in humans and animals from Colombia. *Infect Genet Evol* 22: 223-228. doi: 10.1016/j.meegid.2013.07.020
 24. **Schwarz A, Gaulty M, Abel H, Da° G, Humburg J, Weiss ATA, Breves G, Rautenschlein S. 2011.** Pathobiology of *Heterakis gallinarum* mono-infection and co-infection with *Histomonas meleagridis* in layer chickens. *Avian Pathol* 40: 277-287. doi: 10.1080/03079457.2011.561280

25. **Soulsby EJJ. 1968.** Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. 6th ed. London: Bailliere, Tindall and Cassell. 824 p.
26. **Stensvold CR, Clark CG 2016.** Current status of *Blastocystis*: a personal view. *Parasitol Int* 65: 763-771. doi: 10.1016/j.parint.2016.05.015
27. **Tan KSW. 2008.** New insights on classification, identification and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clin Microbiol Rev* 21: 639-665. doi: 10.1128/CMR.00022-08
28. **Termizi FHM, Panchadcharam C, Govind SK, Wilson JJ, Khalid MKNM, Rajamanikam A, et al. 2018.** Prevalence, ultrastructure and subtypes of *Blastocystis* in chickens (*Gallus gallus*) from peninsular Malaysia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 49: 921-932.
29. **Torres P, Navarrete N. 1972.** Comparación entre los métodos del fijador PAFS y del Telemann modificado en el diagnóstico de protozoos intestinales del hombre. *Bol Chil Parasitol* 27: 90-95.
30. **Torres P, Hott A, Boehmwald H. 1972.** Protozoos, helmintos y artrópodos en gatos de la ciudad de Valdivia y su importancia para el hombre. *Arch Med Vet* 4: 20-29.
31. **Torres P, Franjola R, Yañez L, Diaz V, Gonzalez E, Montecinos MI. 1974.** Estudio preliminar sobre helmintos y artrópodos de *Gallus gallus domesticus* en la provincia de Valdivia, Chile. *Bol Chil Parasitol* 29: 116-117.
32. **Torres P, Gallegos O, Santibáñez J, Háuser M. 1982.** Infecciones por protozoos y helmintos intestinales en grupos familiares de cinco distritos rurales del sur de Chile. *Bol Chil Parasitol* 37: 69-71.
33. **Torres P, Ruiz E, Rebolledo C, Mira A, Cubillos V, Navarrete N, Gesche W, Montefusco A, Valdés L, Alberdi A. 1990.** Parasitismo en peces y comunidades humanas ribereñas de los lagos Huillincó y Natri (Isla Grande de Chiloé), Chile. *Bol. Chil Parasitol* 45: 47-55.
34. **Torres P, Miranda JC, Flores L, Riquelme J, Franjola R, Perez J, Auad S, Hermosilla C, Riquelme S. 1992.** Blastocistosis y otras infecciones por protozoos intestinales en comunidades humanas ribereñas de la cuenca del río Valdivia, Chile. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 34: 557-564.
35. **Torres P, Oth L, Montefusco A, Wilson G, Ramirez C, Acuña M, Marín F. 1997.** Infección por protozoos y helmintos intestinales en escolares de sectores ribereños con distintos niveles de contaminación fecal, del río Valdivia, Chile. *Bol Chil Parasitol* 52: 3-11.
36. **Valenca-Barbosa C, do Bomfim TCB, Teixeira BR, Gentile R, Neto SDDC, Souza B, Magalhaes N, et al. 2019.** Molecular epidemiology of *Blastocystis* isolated from animals in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS ONE* 14(1): e0210740. doi: 10.1371/journal.pone.-0210740
37. **Vargas C, Torres P, Jercic MI, Lobos M, Oyarce A, Miranda JC, Ayala S. 2016.** Frequency of anti-*Toxocara* spp antibodies in individuals attended by the centro de salud familiar and environmental contamination with *Toxocara canis* eggs in dog feces, in the coastal Niebla town, Chile. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 58: 62. doi: 10.1590/S1678-9946201658062
38. **Wang J, Gong B, Liu X, Zhao W, Bu T, Zhang W, Liu A, Yang F. 2018.** Distribution and genetic diversity of *Blastocystis* subtypes in various mammal and bird species in northeastern China. *Parasites Vectors* 11: 522. doi: 10.1186/s13071-018-3106-z
39. **Yoshikawa H, Koyama Y, Tsuchiya E, Takami. 2016a.** *Blastocystis* phylogeny among various isolates from humans to insects. *Parasitol Int* 65: 750-759. doi: 10.1016/j.parint.2016.03.010
40. **Yoshikawa H, Tokoro M, Nagamoto T, Arayama S, Asih PBS, Rozi IE, Syafruddin D. 2016b.** Molecular survey of *Blastocystis* sp from humans and associated animals in an Indonesian community with poor hygiene. *Parasitol Int* 65: 780-784. doi: 10.1016/j.parint.-2016.03.010